

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

ÜBER DIE MORPHOGENESE DER KAPILLÄREN
BASALMEMBRAN WÄHREND DER GEFÄSSENTWICKLUNG
IM CEREBRALCORTEX DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Thomas Bär

aus Berlin

1971

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Über die Morphogenese der kapillären
Basalmembran während der Gefäßentwicklung
im Cerebralcortex der Ratte

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Bär
Berlin

Referent: Professor Dr. med. Joachim Wolff

Korreferent: Professor Dr. med Jorge Cervós-Navarro



**Gedruckt mit Genehmigung des Medizinischen Fachbereiches
der Freien Universität Berlin**

Promoviert am: 15. Okt. 1971

Einleitung	1 - 7
Material und Methoden.....	8 - 9
Befunde.....	10 - 27
Vorbemerkungen und Gliederung.....	10 - 13
Phase I.....	14 - 17
Phase II.....	18 - 21
Phase III.....	22 - 27
Diskussion.....	28 - 36
Zusammenfassung.....	37 - 38
Literatur.....	39 - 54

Bildanhang

Einleitung

Die Basalmembran (BM) ist eine dünne extrazelluläre Schicht, mit der sich ortständige Zellen (Epithel, Endothel, Pericyten, alle Muskel- und Fettzellen), die einen vom Bindegewebe differenten Stoffwechsel haben, gegen einen bindegewebigen Raum abgrenzen (Pierce et al. 1964, Wolff 1971). Die BM steht in enger Beziehung zur benachbarten Zellmembran. Amöboid bewegliche Zellen besitzen keine BM und Zellen, die sich aus einem Gewebsverband lösen, verlieren sie. Gewebe mit starkem, unproportionalen Wachstum haben keine oder nur eine unvollständige BM (Klöppel 1969).

Die elektronenmikroskopische BM entspricht nicht überall der lichtmikroskopischen "Basalmembran" oder dem "Grundhäutchen", das anliegende Schichten von Retikulinfibrillen enthalten kann (Swift 1967, Peterson 1969, Vollrath 1968). Elektronenmikroskopisch haben die BM-en verschiedener Tierspezies und Organe gemeinsame Strukturelemente (Pease 1960b, Vernier 1964, Wolff 1962, 1971): Direkt auf der Zellmembran liegt eine relativ osmophobe, elektronendurchlässige Schicht variabler Dicke, die Lamina rara interna, an die sich eine unscharf begrenzte elektronendichte Lage, die Lamina densa, anschließt. Die Lamina rara übertrifft oft deutlich die Dicke des mit Osmiumsäure nicht anfärbbaren Zelloberflächenfilms, der sich bei zwei eng aneinanderliegenden Zellmembranen indirekt als konstanter Spalt von 15-20 nm Breite darstellt (Lit. siehe Pease 1966). Die Lamina densa, die BM im engeren Sinn, ist nicht homogen sondern setzt sich aus feinen, 3-4 nm dicken Filamenten zusammen, die selektiv uniplanar zur Zellmembran, d.h. parallel zu ihr, in der Fläche jedoch zufällig, angeordnet sind. Die Filamente sind in eine amorphe Kittsubstanz eingebettet, die elektronenmikroskopisch schwer darstellbar ist. In der Lamina rara interna verlaufen nur wenige Filamente, vorzugsweise senkrecht zur Zell-

membran.

Dem relativ einfachen Bild der BM im Elektronenmikroskop steht ihre außerordentlich komplizierte chemische Struktur gegenüber, die noch nicht exakt aufgeklärt ist (Übersichtsartikel von Misra 1969, v. Bruchhausen 1968, Spiro 1970, Kefalides 1970).

Die BM enthält 75-80% Protein, 10-12% Kohlenhydrate (Glucose, Galaktose, Mannose, Fucose und Sialinsäure) und einen wechselnden Lipidanteil. Im Gegensatz zu fibrillärem Kollagen kommt in der BM Zystein vor. Sulfatesterhaltige saure Mucopolysaccharide fehlen dagegen weitgehend (Klinger 1965, Kefalides 1970). Die BM enthält ein Kollagenprotein, daß sich durch einen hohen Hexosegehalt auszeichnet, und mindestens zwei weitere Glykoproteine. Die Lipidanteile scheinen nur locker gebunden zu sein. Ihre Strukturbeziehung und ihre Verteilung in der BM sind noch weitgehend unbekannt. Auf Grund polarisationsoptischer Untersuchungen (Niessing 1954) werden radiäre, bimolekulare Lipidinseln in der kapillären BM diskutiert. Immunologisch besitzt die BM drei unterschiedliche Antigenkomponenten. Die eine wird durch das Kollagen, die beiden anderen werden durch zwei Glykoproteine unterschiedlichen Molekulargewichtes repräsentiert (Kefalides 1970). BM-en von gleichen Geweben verschiedener Säugetiere sind sich in ihrem Aminosäuren- und Kohlenhydratgehalt zwar qualitativ ähnlich, sie unterscheiden sich aber in ihrer quantitativen Zusammensetzung (Kupfer 1968, Kefalides 1970). BM-en von Zellverbänden verschiedener embryonaler Herkunft besitzen deutliche biochemische Unterschiede. Das zeigt sich zum Teil im Verhalten gegenüber Lösungsmitteln und proteolytischen Enzymen (Kefalides 1970).

Die BM ist keine inerte Substanz, sondern hat einen relativ schnellen Stoffwechsel. Nach den Befunden von Lazarow und Speidel (1964) wird die glomeruläre BM in weniger als 60 Tagen vollständig erneuert. Sowohl der BM Stoffwechsel, als auch die BM-Morphologie können bei verschiedenen Krankheiten oder unter experimentell-pathologischen Bedingungen gestört sein

(Lazarow und Speidel 1964: Alloxan-Diabetes der Ratte, Chow 1969: nephrotoxische Nephritis, Pierce 1970: Aminonucleosid Nephrose). Verdickte- und teilweise gefaltete BM-en entstehen meist im Verlauf der diabetischen Nephropathie, beim Lupus erythematoses und zum Teil beim nephrotischen Syndrom (Vernier 1964). Außerdem liegen in Cytoplasmabuchten von Mesangiumzellen Massen von BM-Material atypischer Struktur (Lazarow 1964, Pierce 1970). Auch bei Krankheiten des Zentralnervensystems (z.B. amaurotische Idiotie (Tay-Sachs); subakute, sklerosierende Panencephalitis) werden veränderte, zerstörte Kapillarwände mit BM-Verdickung, -Auflockerung und "break down" beschrieben (Zeman et al. 1970). Die Faktoren, die die BM Morphologie beeinflussen können, sind vielfältig (Shirai 1969, Pierce et al. 1969, Vracko 1970).

Die Dicke der BM ist in normalen Organen physiologischen Schwankungen unterworfen (Wolff 1971) und kann vom Kontraktionszustand des Gefäßes abhängen (Weiber 1963, Kimmelstiel 1968). Bestimmte BM-en verdicken sich mit steigendem Alter (Processus ciliares: Yamashita 1967; Nierentubuli: Scott 1964, glomeruläre BM: Kurtz 1961, Bloodworth et al. 1969; kapilläre BM-en der Retina: Bloodworth et al. 1969). Die BM Dicke unterscheidet sich schließlich bei verschiedenen Tierarten (Wolff 1962, 1971).

In der Embryonalentwicklung entstehen BM-en bevor typisches Mesenchym aus der mesodermalen Anlage hervorgegangen ist (Klöppel 1969). Oft ist ein Zusammenhang zwischen der Genese von Kollagenfilamenten und -fibrillen einerseits und der BM-Bildung andererseits feststellbar (Nadol et al. 1969, Klöppel 1969). Doch können BM-Strukturen sowohl in der Ontogenese (Reichert'sche Membran; Petry 1964, Merker 1970a) als auch in der Phylogenese (endovaskuläre Membran, Hama 1960) in Abwesenheit anderer extrazellulärer Filamente oder Fibrillen entstehen. In 5-6 Tage alten Mäuseembryonen ist epitheliales BM-Antigen zwischen embryonalem Ektoderm und

proximalem Entoderm vorhanden, während Kollagen erst später (und zwar zuerst in der Aortenwand) immunologisch nachweisbar wird (Pierce 1966). Im Embryo entstehen die BM'en verschiedener Zellverbände nicht zur gleichen Zeit. Zuerst grenzen sich embryonale Epithellen (Ektoderm, Chorda, Neuralohr) mit einer BM vom Mesenchymraum ab (Klöppel 1969). Der Bindegewebsraum wird während der ontogenetischen Entwicklung immer komplexer, bleibt aber wahrscheinlich auch im erwachsenen Organismus ein kontinuierlich zusammenhängendes Spaltensystem (Low 1964).

Endotheliale, vaskuläre BMen entstehen im Verlauf der Gefäßdifferenzierung und sind meist erst nach der Geburt vollständig ausgebildet. Wachsen Blutgefäße in Zellverbände ein, so stülpt sich perivaskulär ein schmaler Bindegewebspalt mit ein. Das Stroma ist von der Gefäßwand durch die vaskuläre BM, vom Parenchym durch die BM des Epithels getrennt. Die Gefäße der meisten Organe sind auch in der terminalen Strombahn von perivaskulärem Bindegewebe, das als Interzellularsubstanz Kittsubstanz und Kollagenfibrillen enthält, umgeben. Bei einigen Organen mit funktioneller Sonderstellung der terminalen Strombahn kann dort in unterschiedlichem Ausmaß das perivaskuläre Bindegewebe fehlen. Durch Fusion der epi- und endothelialen BM sollen verdickte BMen direkt zwischen Parenchym und Kapillaren entstehen. In der Lunge rücken nach der Geburt epitheliale und endotheliale Basalmembranen zusammen und verschmelzen schließlich im membranösen Teil der Alveolarwand. In der Niere fehlt im Bereich der Glomerulumkapillaren schon embryonal typisches, fibrillenhaltiges Bindegewebe. Zwischen epithelialem und endothelialem Blatt der BM liegt ein mit amorphem Material ausgefüllter Raum. Später rücken beide Blätter zusammen (Kurtz 1958).

Die Gefäßversorgung der ZNS Anlage geht in zwei Etappen vor sich. Zuerst nähern sich Gefäßsprosse im Kopfe-

senchym (perineurales Mesenchym) der marginalen, neuroepithelialen BM und bilden ein Geflecht, das die Hirnbläschen umgibt. Diese periepitheliale Gefäßlage bleibt später als "meningeale" erhalten. Erst sekundär findet eine Vaskularisation des Parenchyms statt, indem sich von den leptomeningealen Gefäßen Sprosse in das Hirngewebe einsenken und dort verzweigen (Breipohl 1968). Eine ähnliche Art der Vaskularisation findet sich während der Herzentwicklung (Merker: pers. Mitteilung) und im erwachsenen Organismus bei der Vaskularisation des Corpus luteum (Lit. siehe Carsten 1970).

Das Besondere besteht beim ZNS darin, daß die Gefäße beim Einwachsen nur für ein kurzes Stück von einer engen perivaskulären Einstülpung des perineuralen Mesenchyms begleitet werden. Während der Entwicklung (Wechsler (1965) und auch beim erwachsenen Tier fehlt im Bereich der Hirnkapillaren ein Bindegewebsspalt (Nelson et al. 1961, Cervos Navarro 1964, Frederickson 1969). Allerdings darf man insofern nicht verallgemeinern, als es auch im erwachsenen Gehirn einzelne Kapillargebiete mit perivaskulärem Bindegewebe gibt (Eminentia mediana, Infundibulum, Neurohypophyse, Epiphyse, Tuber cinereum, paraventriculäre Organe, Medulla oblongata (Wislocki 1952, Woollam 1954, Nemecek u. Wolff 1968). Auch unter pathologischen Bedingungen, beispielsweise in der Randzone traumatischer Nekrosebereiche, können unter Aufspaltung der kapillären BM perivaskuläre Räume entstehen, in denen sich adventitielle Zellen und Kollagenfibrillen finden (Hager 1964).

Noch bevor die ersten Gefäße in die ZNS-Anlage einwachsen, bedeckt eine über weite Strecken kontinuierliche BM das Neuralrohr (marginale BM, Peterson 1968a). Sie passt sich nur begrenzt proliferativen Vorgängen des neuroektodermalen Gewebes einerseits (z.B. Augenbläschen, Hirnnerven), und einwachsenden Gefäßen andererseits an. Die ZNS-Anlage ist deshalb ein gutes

Modell zum Studium der Entstehung vaskulärer BM-en, weil das primär gefäßlose, nur aus Neuroepithelzellen bestehende Neuralrohr, sekundär vom Gefäßplexus des Kopfmesenchyms aus vaskularisiert wird und im Kapillarbereich eine direkte Beteiligung perivaskulären Bindegewebes an der BM Synthese weitgehend ausgeschlossen werden kann. Die meisten Arbeiten gingen auf die Morphogenese der BM nur am Rande ein (Donahue 1961, 1964; Tanl 1963; Pappas 1964; Wechsler 1965; Bogolepov 1967; Breipohl 1968, Delorme 1968; Caley 1970). Danach entsteht zunächst an den Gefäßen perivaskulär ein amorphes oder filamentäres Material von geringer Elektronendichte. Aus diesen Vorstufen bildet sich, hauptsächlich in der postpartalen Entwicklung, die definierte, elektronendichte, verdickte Basalmembran der Intracerebralen Gefäße. Dazu parallel läuft die Entwicklung des Endothels und der perivaskulären Glia. Im embryonalen, voluminösen Endothel entwickelt sich reichlich ER, das mit steigender Endothelreife und der damit verbundenen Wandverdünnung wieder spärlich wird. Die unreifen Gefäße haben keine kompakte Gliahülle. Diese wird erst vollständig, wenn das Neuropil ausreift und die großen extrazellulären Spalträume verschwinden.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die embryonale und postpartale Entwicklung der kapillären BM intra- und extracerebraler Gefäße im Zusammenhang mit der Reifung des Cortex und versucht, soweit dies auf Grund von morphologischen Befunden möglich ist, folgende Fragen zu beantworten:

- 1.) Wie verhält sich die allgemeine Morphologie der Kapillaren, speziell die BM-Struktur, während der Entwicklung des umliegenden Hirnparenchyms?
- 2.) Tritt in der Ontogenese ein Differenzierungsgefälle zwischen leptomeningealen und intracerebralen Gefäßen auf?

- 3.) Beeinflußt das meningeale, perivaskuläre Bindegewebe die Entwicklung der kapillären BM?
- 4.) Ist im Cerebralcortex eine getrennte Entwicklung des epithelialen und endothelialen Blattes der BM feststellbar?
- 5.) In welcher Weise nehmen die der kapillären BM benachbarten Zellen an ihrer Bildung teil?

Material und Methoden

Die Versuchstiere (Wistar Albino Ratten vom Stamm SW 69 und SW 64) wurden bei verschobenem Tag- Nachtrhythmus in temperatur- und feuchtigkeitsgeregelten Räumen unter üblichen Standardbedingungen gehalten. Die Verpaarung erfolgte zwischen 7³⁰ und 9³⁰. Da mindestens 80% der Muttertiere gegen 8⁰⁰ spermienpositiv sind, gelten die folgenden 24 Stunden als Tag 0. Insgesamt wurden 47 Tiere licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Der jüngste Embryo war 11 Tage alt. Bis zur Geburt untersuchten wir in Tagesabständen danach 1^{1/2} Tage, 3^{1/2}, 5, 7, 9, 13, 16, 20 Tage alte und schließlich erwachsene Tiere.

Die embryonalen und früh postpartalen Ratten wurden dekapitiert. Anschließend wurde das Gehirn in einer Schale mit eiskalter Fixierlösung präpariert und in ca 1 mm starke Frontalscheiben geschnitten, die für 2-4 Stunden in dieser Lösung blieben. Die Fixierlösung hatte stets die gleiche Zusammensetzung (30ml Glutaraldehyd 10%ig, 3g Paraformaldehyd in 40ml H₂O und 30ml Cacodylatpuffer, pH 7,2 bis 7,4).

(Karnovsky 1967, modifiziert nach Wolff, unveröffentlicht).

Vom 5. postpartalen Tage an wurden die Tiere vom Herzen her perfusionsfixiert: In Nembutal (Abott)-Narkose legten wir das Herz möglichst schnell frei, punktierten mit einer konisch geschliffenen Kanüle, schoben sie bis zur Aorta ascendens vor und begannen nach Eröffnung des rechten Vorhofes die Perfusion. Die Perfusionsdauer lag zwischen 30 und 70 Minuten. Dabei wurden meist zwischen 300 und 500 ml kalter (4-10°C) Fixierlösung verbraucht. Nach der Präparation lagen die Hirnscheiben etwa 1 h lang in kalter Fixierlösung. Die Nachfixierung, die in einer 1%igen mit 0,1 mol Cacodylat gepufferten Osmiumsäurelösung erfolgte, dauerte generell 2 Stunden. Nach Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe wurde in Mikropal (Ferak,

Berlin) eingebettet. Die Blöcke wurden mit einem Reichert-Fräsegeräte unter stereomikroskopischer Kontrolle zugespitzt. Anschließend fertigten wir ca. 2 μ dicke Schnitte an, die nach Giemsa gefärbt wurden. Nach der lichtmikroskopischen Untersuchung und Orientierung in diesen Schnitten erfolgte das Zuspitzen der Pyramide für die Dünnschnitte.

Wir untersuchten bei 11-tägigen Embryonen die Prosencephalonanlage in horizontaler Schnittführung in mehreren Ebenen, bei 12-14 tägigen Embryonen Hemisphärenwand- und Hirnstammabschnitte horizontal und frontal, bei 16 Tage alten Embryonen die laterale Hemisphärenwand sowie die Wand des IV. Ventrikels. Bei allen anderen Tieren wurden im Frontalschnitt die laterale Hemisphärenwand und postpartal oberflächennahe und tiefe Schichten aus dem Frontal- und Parietalcortex mit der angrenzenden Leptomeninx untersucht.

Dünnschnitte: Reichert Ultramikrotom, LKB Ultratome I. Doppelkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat (Reynolds). Elektronenmikroskop: Siemens Elmiskop 1a, 80 KV.

Die Anzahl der Gefäßanschnitte pro Flächeneinheit wurde lichtmikroskopisch mit einem Integrationsokular (Zeiss) an mikropaleingebettetem Material bestimmt (Vergrößerung: 320x). Die Dicke der Basalmembran und die Weite des Interzellulären, perivaskulären Spaltes (PVS) wurden auf Fotografien (Endvergrößerungen zwischen 30 000:1 - 100 000:1) mit einer Leitz Meßlupe ermittelt.

Befunde

Die ersten Gefäße, die in der Zeit vom 12.-13. Embryonaltag in die Anlage des Zentralnervensystems (ZNS) einsprossen, sind morphologisch einheitlich. In der weiteren Entwicklung existieren Gefäße verschiedenen Alters nebeneinander, weil offenbar die bestehenden sich differenzieren und durch Sprossung ständig weiter unreife Gefäße entstehen. Während der Ontogenese des ZNS wachsen die Kapillarsprossen nicht mit gleichmäßiger Geschwindigkeit. Es gibt, gemessen an der Anzahl der Gefäßquerschnitte pro Flächeneinheit, zwei Schübe besonders schneller Kapillarproliferation. Sie verlaufen in verschiedenen Hirnregionen zu unterschiedlicher Zeit. Der erste Schub findet im Gebiet der lateralen Hemisphärenwand während des 14.-17. Embryonaltages, der zweite Schub im Parietalcortex während des 11.-20. postnatalen Tages statt. Die Kapillaren im erwachsenen Organismus sind ein Teil der terminalen Strombahn. Sie sind durch die geringe Lumenweite und den speziellen Wandbau gekennzeichnet (HAMMERSEN 1971, WOLFF 1971). Aus dem Bild der kapillarähnlichen, primitiven Gefäße ist nicht abzusehen, ob sie sich später zu Arteriole, Kapillaren, Venulen oder kleinen Venen entwickeln. Offenbar verläuft die Entwicklung der verschiedenen Anteile der terminalen Strombahn in den Anfangsstadien ähnlich. Im Endothel und der undifferenzierten, meist unvollständigen 2. Wandschicht embryonaler "Kapillaren" sind keine Filamente vorhanden. Der Kapillardurchmesser, der anfangs relativ weit ist, verengt sich postnatal allmählich. Am 20. Tag p.n. liegt er durchschnittlich zwischen 3 und 4 μ .

Die Anlagerung der Basalmembran (BM) an die Gefäßwände ist von der Wachstumsaktivität und der Reife der Gefäßwandzellen und des umliegenden Gewebes abhängig.

Faßt man alle Befunde an der marginalen BM und den intracerebralen und leptomeningealen Gefäß-BM-en im Verlauf der Entwicklung zusammen, so ergibt sich ein allgemeiner Weg der submikroskopischen Morphogenese der BM:

Stadium 1)

Alle Zellen, die eine BM an ihrer Oberfläche entwickeln, durchlaufen eine Phase, in der diese völlig fehlt. Als erstes Anzeichen einer BM Bildung tritt ein stellenweise fast amorphes, flockiges, wenig osmophiles Material auf. Es besteht bei höherer Auflösung aus sehr feinen, 1-2 nm dicken Filamenten, die jedoch unscharf begrenzt sind. Dieses Material liegt immer in der Nähe der entsprechenden Zellmembranen, haftet aber nicht überall daran (Abb. 1a).

Stadium 2)

Dieses flockige Material schließt sich zu immer ausgedehnteren Platten zusammen, wobei die Filamente deutlicher hervortreten und sich schließlich in diskontinuierlichen Lamellen vernetzen. Häufig ist ein typischer, elektronendurchlässiger Spalt zwischen Zellmembran und diesen Lamellen sichtbar (Lamina rara). Stellenweise zeigen die elektronendichten Filamentnetze (Vorläufer der Lamina densa) eine überwiegend parallel zur Zellmembran orientierte, wabige Struktur (Abb. 1b,e).

Stadium 3)

Nachdem sich die Flocken und Plaques an die Zellmembran adsorbiert, abgeflacht, ausgedehnt und zusammengeslossen haben, bildet sich eine kontinuierliche, dünne und relativ gleichmäßig elektronendichte Lamina densa aus, die meist von einer nicht scharf begrenzten Lamina rara gegenüber der Zellmembran begleitet wird. An BM-Flachschnitten ist eine wabenartige Anordnung zu erkennen. Der Durchmesser der polygonalen Waben in der Lamina densa ist bedeutend kleiner als in der Lamina rara. In Letzterer ist der Abstand zweier parallellaufender Filamente ca. 15-20 nm. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß die Filamente der Lamina rara überwiegend senkrecht oder schräg auf die

Zellmembran zulaufen (Abb. 1c,d,f).

Stadium 4)

An den Intracerebralen Kapillaren, besonders an ihrem arteriellen Schenkel, verdicken sich anschließend die BM-en, werden dichter gefügt und besitzen dann nur schmale, oft undeutlich abgesetzte Laminae rarae.

Das ungleichmäßige Wachstum während der Ontogenese und die an verschiedenen Abschnitten des Gefäßbaumes unterschiedlich ausgebildete BM, erschweren die Beschreibung ihrer Entwicklung als einen kontinuierlich fortschreitenden Prozeß. Auf einem Schnitt können zum Beispiel Gefäße erscheinen, deren BM-en sich in unterschiedlichen Entwicklungsstadien befinden. Daher erscheint es sinnvoll die Einteilung nicht nach Tagen vorzunehmen, sondern größere Zeiträume, Phasen, zu verwenden, in denen die vaskuläre BM ein Endstadium erreicht, das sich deutlich vom vorigen unterscheidet (Abb. 2).

Phase I)

Der Gefäßplexus des perineuralen Mesenchyms lagert sich an die marginale Oberfläche des Neuralrohres an, und es erfolgt die primäre Vaskularisation der Hemisphärenwand (12.-16. Embryonaltag).

Phase II)

In den Hemisphären verläuft das weitere Gefäßwachstum etwa proportional zum weiteren Dickenwachstum der Hemisphärenwand. Die Anzahl der Gefäßquerschnitte pro Flächeneinheit nimmt nicht wesentlich zu. Die Cytodifferenzierung und das schnelle Cortexwachstum sind erfolgt (17. Embryonaltag bis zum Ende der ersten postnatalen Woche).

Phase III

Nachdem die Kapillardichte bis auf ihren definitiven Wert angestiegen ist, erreicht die betreffende Region die funktionelle Reife. (Für den Parietalcortex: 10-20. Tag postnatal).

Die Form und die Cytoplasmastruktur von Endothel, Pericyten und der perivaskulär gelegenen Zellfortsätze werden insoweit beschrieben, als diese im Zusammenhang stehen könnten: mit dem Wachstum und der Oberflächenvergrößerung der Zellen (Golgi Komplex, Vakuolen, Vesikel); mit der Synthese und Sekretion von BM Material, bzw. seiner Komponenten oder Vorstufen (rauhes ER, Golgi Komplex); mit der Bildung von Strukturen, die Beziehung zur Ausreifung und zum Funktionseintritt des umliegenden Gewebes haben (z.B. Kollagenfibrillenbildung im Bindegewebe, intracytoplasmatische Filamentbildung im Endothel, Pericyten und perivaskulären bzw. marginalen Astrocytenfortsätzen, sowie Synapsenentstehung und der extrazelluläre Spalt im Neopil).

Phase I

Das Prosencephalon, das bei der Ratte am 11. Embryonaltag noch keine Hemisphärenanlage zeigt, ist gefäßlos und besitzt im vorderen und oberen Medianbereich noch einschichtiges Neuroepithel. Bereits jetzt sind die Hirnbläschen fast vollständig von einer BM bedeckt (marginale BM=Membrana limitans externa). Primitive Gefäße im Kopfmesenchym (perineurales Mesenchym), das aus einem lockeren Maschenwerk verzweigter Zellen und einigen sehr dünnen (6-10 nm) aber quergestreiften (6-7 nm Periode) Retikulinfibrillen besteht, legen sich in der weiteren Entwicklung eng der marginalen BM an. Bei 12-tägigen Embryonen beobachtet man im Mittelhirnbläschen - einen Tag später im baso-lateralen Teil der Hemisphärenwand, der zum Ganglienhügel wird - die ersten Gefäße im neuronalen Gewebe. Von basal nach parietal schreitet das Einwachsen der Gefäße mit steigender Dicke der Hemisphärenwand fort. Die medialen Hemisphärenwände, die sich im Verlauf der Ausbildung der Fissura interhemisphaerica einsenken, werden als letzte vaskularisiert.

Bei der Sprossung bilden die Gefäßwandzellen lokal solide, zapfenförmige Fortsätze, die distal ohne Lumen - radiär in das Hirngewebe eindringen. Dabei stülpt sich die marginale Glia trichterförmig ein (Abb.3), ohne zunächst ihre BM zu verlieren. Beim weiteren Vordringen der proximal bereits kanalisierten Gefäße wird die Kontinuität der marginalen, nun perivaskulär liegenden Glioblastenfortsätze und ihrer ursprünglich marginalen BM unterbrochen. In oberflächennahen Abschnitten der in das Gehirn eintretenden Gefäßtrichter sind einzelne dünne Retikulinfibrillen zu finden (Abb. 3b,c). In der Tiefe fehlen ein offener perivaskulärer Raum mit Fibroblasten und Kollagenfibrillen, die BM-en und größtenteils eine perivaskuläre Gliaumhüllung. Die perivaskulären Spalten sind durch pseudopodienartige Fortsätze der Gefäßwandzellen unterschiedlich weit

(Abb. 4a). Die Gefäße grenzen teils direkt an die Perikarya neuroektodermaler Zellen (Matrix und folgende Zone undifferenzierter Zellen), teils liegen Fortsätze dazwischen, die nicht mit Sicherheit einem bestimmten Zelltyp zugeordnet werden können (Differenzierungszone und Randschleier). Die mehrschichtige Matrix der Hemisphärenwand ist ein dichtgefügter Zellverband mit relativ engen Interzellulären Spalten. In der locker gebauten Differenzierungszone und dem hauptsächlich aus Zellfortsätzen bestehenden Randschleier gibt es größere extrazelluläre Räume. Die intracerebralen Gefäße dringen nicht bis in die innere ventrikelnähe Matrixzone vor, wo zwischen den gestreckten Fortsätzen der Matrixzellen in Interphase abgerundete, sich mitotisch teilende Zellen liegen. Die tiefsten Gefäßanschnitte liegen ein oder zwei Zellagen davor.

Allgemeine Morphologie der Gefäße:

An Gefäßwand- (Abb. 3a) und Blutzellen sind relativ häufig Mitosen zu beobachten. Das Endothel bildet im Gegensatz zu den übrigen mesenchymalen Zellen enge Interzellularkontakte (gap-junctions) aus, und zwar dort, wo sich dünne Endothelfortsätze überlappend berühren. Fortsätze anderer Mesenchymzellen lagern sich als zweite Gefäßwandschicht meist dort an, wo die Endothelwand lückenhaft oder sehr dünn ist und zum Teil echte Poren aufweist. Endothellücken sind nur an undifferenzierten frühembryonalen Gefäßen zu beobachten. Poren mit Diaphragmen kommen bis zum 16. Embryonaltag vor (Abb. 4a,b). Die Endothelzellperikarya wölben sich weit in das Gefäßlumen vor. Das Endothelcytoplasma enthält viele freie Ribosomen (Polysomen) bei wenig entwickeltem rauhen Endoplasmatischen Retikulum (ER). Bald darauf treten Golgi Zonen und reichlich rauhes ER auf. Anfangs liegt das rauhe ER in Form flacher Zisternen vor, später bildet es vakuolige Auftreibungen. Jetzt zeigen die embryonalen Gefäße typische unebene Oberflächen, die mit starken Dickenunterschieden im Endothel, Cytoplasmafalten und Invaginationen, Pseudopodien und komplizierten Überlappungen und Verzahnungen im Bereich der

Interzellularkontakte verbunden sind (Abb.4; Abb.7a). Im Cytoplasma kommen Vakuolen verschiedener Größe vor ; die typische Vesikulation (30-80 nm Vesikeldurchmesser) fehlt noch. Am Ende dieser ersten Phase lassen sich zuerst im leptomeningealen Bindegewebe, wenig später intracerebral, Pericyten von Fibroblasten und/oder Endothelzellen abgrenzen, weil Pericyten an der äußeren Oberfläche ihrer Zellmembran BM Material anlagern und dadurch in die Gefäßwand einbezogen werden, ohne jedoch an das Lumen zu grenzen. Für die Differenzierung des leptomeningealen Bindegewebes (Fibroblasten und Kollagenfibrillen) und der Gefäße (Pericyten und BM-Entwicklung) besteht grundsätzlich ein Gefälle von der Schädelbasis nach parietal.

Vaskuläre BM (Stadium 1):

An jungen meningealen Gefäßen mit stellenweise diskontinuierlichem Endothel fehlt die BM völlig. Zuerst liegt BM-Material in Buchten und Falten von Pericyten- und basalen Endotheloberflächen, sowie in Verlängerung von Fortsätzen dieser beiden Zellarten. Während sich in der Leptomeninx das filamentäre BM-Material an die frei zum Bindegewebsraum weisenden Flächen der Gefäßwand anlagert, ist intracerebral die BM dort betont, wo neuroektodermale Zellfortsätze (Glioblasten) der Gefäßwand anliegen. Das BM-Material ist teils flockig, fast amorph, teils besteht es aus zarten, 1-2 nm dünnen Filamenten, die räumlich ungeordnet verlaufen und als dünnes Netzwerk zunehmend pericytäre und subendotheliale Oberflächen bedecken.

Marginale BM (Stadium 3):

Sie entsteht früh an der peripheren Oberfläche des Neuralrohres und ist bei 11 Tage alten Embryonen bereits über weite Strecken sogar der Prosencephalonanlage kontinuierlich. Die Filamentstruktur der marginalen BM verändert sich in der weiteren Entwicklung nur unwesentlich. Lediglich die Dicke der Lamina densa hat im Erwachsenenalter etwas zugenommen und ihre Dickenschwankungen sind geringer als in der embryonalen Zeit. Messungen sind problematisch,

weil die Lamina densa eine von der Lamina rara nicht scharf abgrenzbare Verdichtungszone ist (ca. 15 nm), in der das auch in der Lamina rara vorhandene lockere Filamentwerk enger vernetzt und osmiophiler erscheint (Abb. 1c). Lamina densa und Lamina rara zusammen sind etwa 40-50 nm dick. Die Lamina densa überbrückt leichte Wellungen der Zellmembran und Niveauunterschiede an den Interzellulargrenzen der marginalen Glia. Sie ist also nicht an allen Stellen gleich eng mit der Zellmembran verbunden. Die Grenzfläche der Hirnanlage zum Mesenchym ist nicht immer glatt begrenzt. Neuroepitheliale Zellen (Spongioblasten nach His 1904) entwickeln Lamellen oder schmale Ausläufer, die sich zwischen die marginale BM und darunterliegende Perikarya des Neuralrohres schleben oder von BM umgeben in das perineurale Mesenchym ragen können. Außerdem finden sich oft Einfaltungen der marginalen Gliazellmembran, denen die BM nicht folgt (Abb. 5d). Im Cytoplasma der marginalen Glioblasten ist kaum rauhes ER entwickelt (Abb. 5). Jedoch kommen Ribosomen-freie Vakuolen mit BM ähnlichem, filamentärem Material vor. Ähnliche Vakuolen findet man als lokalisierte Erweiterungen der Ribosomen-besetzten perinucleären Zisterne und in Fusion mit der marginalen Oberfläche (Abb. 5). Der filamentäre Inhalt der Vakuolen ist nach Fusion mit der Oberfläche in gleicher Art an die Vakuolenwand adaptiert, wie die marginale BM (Abb. 5b,c).

Phase II

Leptomeninx:

Vom 14. Embryonaltag an nimmt in den fibroblasten-ähnlichen Zellen der Leptomeninx die Anzahl der freien Ribosomen ab. Gleichzeitig entwickeln sich ausgedehnte, parallel verlaufende Zisternen des rauen ER. Die tropfigen Lipideinschlüsse, die in frühembryonaler Zeit häufig sind, verschwinden. Die Retikulinfibrillen in der Umgebung der Gefäße und an der marginalen BM sind zahlreicher und etwas dicker (10-15 nm) geworden. Ihre Querstreifungsperiode liegt noch bei 7nm. Manchmal verjüngen sich Retikulinfibrillen bei Annäherung an die BM, verlieren ihre Querstreifung und scheinen in das Filamentwerk der BM einzustrahlen. Die an der Hirnoberfläche liegenden Gefäße sind von der marginalen BM gewöhnlich durch eine dünne Schicht leptomeningealer Zellfortsätze getrennt, die miteinander durch Adhäsionskontakte verbunden sein können.

Hemisphärenwand:

Die neopalliale Rindenplatte verdickt sich hauptsächlich durch Zellen, die aus der Matrix einwandern. Die unteren Cortexschichten differenzieren sich früher als die oberflächlichen. Diese Tendenz ist auch postnatal bei der Synapsenentwicklung und der Myelinisierung der Axone erkennbar. Im Parietalcortex 19-tägiger Rattenembryonen sind morphologisch noch keine Synapsen vorhanden. Stellenweise kommen desmosomenartige Adhäsionskontakte zwischen neuronalen Fortsätzen im Cortex vor. In der marginalen Zone und im Bereich des zukünftigen Marklagers liegen größere extrazelluläre Räume, während die Zellschichten und Fortsätze der Rindenplatte meist bis auf die Interzellularspaltbreite von 20-100 nm zusammengedrückt sind. Die hier vorkommenden Gefäße sind fast lückenlos in das Gewebe eingepaßt. Dabei bleibt eine nur relativ enge perivaskuläre Fuge frei (Abb. 4c). Die Rindenschichten differenzieren sich hauptsächlich nach der Geburt. In der ersten post-

natalen Woche findet eine sprunghafte Verdickung des Cortex statt, die hauptsächlich auf das Wachstum der neuronalen Fortsätze zurückzuführen ist. Im Verlauf dieses schnellen Wachstums bleiben im Neuroplii noch größere extrazelluläre Zwischenräume bestehen.

Allgemeine Morphologie der Gefäße:

An großen Gefäßen in der basalen Leptomeninx differenziert sich die zweite Wandschicht bereits am 17. Embryonaltag. Pericytenähnliche Zellen, aus denen sich die Myoblasten der Tunica media entwickeln, bedecken das Endothel mit eng anliegenden Zellfortsätzen. Diese weisen an der endothelialen Seite ihres Cytoplasmas eine verdichtete, filamenthaltige Zone auf, die im Verlauf der weiteren Differenzierung deutlich breiter wird. Endotheliale Filamente sind seltener, kommen jedoch auch embryonal in größeren Gefäßen vor und sind 7-10 nm dick. Im Spalt zwischen Endothel und Myoblasten liegen lokal dichte BM-Platten (25-30 nm dick), die später zu einer einheitlichen BM verschmelzen. In dieser Zone entsteht die *Elastica Interna* der Arterien. Intracerebral ist die Differenzierung der Arterien deutlich verzögert und beginnt im Parietalcortex etwa am Ende der ersten postnatalen Woche. Die Anzahl aller Gefäßanschnitte pro Flächeneinheit nimmt im Parietalcortex im Zeitraum der letzten Embryonalwoche bis zum Ende der ersten postnatalen Woche nicht wesentlich zu.

Im Folgenden wird nur die Morphologie der undifferenzierten Gefäßsprosse und der Kapillaren beschrieben. Die Endothelsprosse besitzen ein ausgeprägtes, verzweigtes rauhes ER und haben zuerst nur ein spaltförmiges Lumen. Im Cytoplasma des folgenden Gefäßabschnittes sind Vakuolen und ein ausgedehnter Golgi Apparat vorhanden. Das Lumen ist bereits offen. Weiter proximal flacht sich das Endothel ab (Abb. 2 (2), Abb. 6c, Abb. 7b), und die Zellkerne strecken sich (Abb. 4c). Nur noch einzelne Mikrovilli und Cytoplasmaleisten ragen meist in Verlängerung endothelialer Zellränder in das Lumen.

Im Cytoplasma des abgeflachten Endothels erscheinen Vesikel, deren Durchmesser aber noch variabel ist (Abb. 6c). Das rauhe ER bildet enge, parallel und gestreckt laufende Profile oder vakuolig aufgetriebene Zisternen mit Ribosomenbesatz (Abb. 6a). Die perinucleäre Zisterne verhält sich entsprechend. Je abgeflachter das Endothel ist, umso seltener sind Vakuolen mit Ribosomenbesatz oder aufgetriebene Zisternen des ER. Das rauhe ER zeigt verschiedene Möglichkeiten, mit dem extrazellulären Raum in Kontakt zu treten. Es legt sich relativ häufig unter lokalem Verlust der Ribosomen so an die Zellmembran an, daß nur ein ca. 10 nm breiter Spalt zwischen beiden bestehen bleibt, ohne daß eine echte Öffnung auftritt. Seltener entstehen bei sehr dichter Anlagerung des rauhen ER an die Zellmembran eine oder wenige Poren mit Diaphragma (Abb. 6a,b,d). Das ER kann außerdem direkt in glattwandige Intracytoplasmatische Vakuolen einmünden, die ihrerseits mit der Zellmembran fusionieren können (Abb. 6c). Letzteres konnten wir an Endothel und Pericyten sowie an leptomeningealen Zellfortsätzen beobachten.

Das Kapillarendothel ist fast vollständig von einer zweiten undifferenzierten Wandschicht umgeben. Diese periendothelialen Fortsätze sind oft untereinander verzahnt und überlappen sich teilweise. Ihre Zuordnung zum Pericyten ist oft nicht möglich, weil auch lamelläre Endothelfortsätze sich perivaskulär beträchtlich überlappen können. Eine BM-Bildung zwischen diesen Fortsätzen und dem neuroektodermalen Gewebe weist auf ihre mesenchymale Herkunft hin. Der enge perikapilläre Raum wird also durch schmale Zellfortsätze stark untergliedert. Gelegentlich durchbrechen basale Endothelfortsätze die BM, stülpen sich in das Cytoplasma des Pericyten ein (Abb. 4c) oder dringen

direkt in das angrenzende Neuropil. Die Kapillärwände sind zunächst noch unvollständig von relativ dicken Glioblastenfortsätzen bedeckt. Sie unterscheiden sich auf Grund ihrer typischen Anlagerung an die meningealen und vaskulären Grenzen des Zentralnervensystems und deren BM-en schon frühzeitig von den übrigen neuronalen Fortsätzen. Die dem Nervengewebe zugewandten Oberflächen der Glioblastenfortsätze sind immer frei von BM; wo sie jedoch an den perivaskulären Spalt grenzen, sind sie von BM-Material bedeckt. Dabei wird oft eine zweite BM-Lamelle sichtbar (Abb. 7b). Die perivaskulären und marginalen Glioblastenfortsätze sind auch an ihrem meist blassen, Ribosomen-armen Cytoplasma mit elektronendichten, etwa vesikelgroßen Einschlüssen (Abb. 7b), Glykogengranula und später an den Intracytoplasmatischen Filamenten zu erkennen.

Vaskuläre BM (Stadium 1-2):

Im Allgemeinen ist die pericytäre BM stärker gegenüber dem Neuropil bzw. Bindegewebe, als an der endothelialen Seite entwickelt (Abb. 6c, 7b). Im Bindegewebe sind die Gefäße relativ gleichmäßig von einer locker strukturierten, filamentären BM umgeben. Dort, wo nur eine schmale perikapilläre Fuge vorhanden ist, liegt eine dünne Lamina densa vor. Intracerebral ist die BM-Entwicklung von der Bedeckung der Gefäßwand mit Glioblastenfortsätzen abhängig. Wird z.B. beim Eintritt von Gefäßen in das Gehirn die marginale bzw. perivaskuläre Glia lückenhaft, so bleibt nur die dünne, an der Gefäßwand haftende BM übrig, die noch bis zum Beginn der zweiten postnatalen Woche streckenweise diskontinuierlich sein kann (Abb. 7b).

Phase III

Leptomeninx:

Die Gefäße sind von einer unvollständigen Schicht aus dünnen, leptomeningealen Zellfortsätzen umgeben. Am Ende der ersten postnatalen Woche kommen in der Pia mater noch kapilläre, nicht ausgereifte Gefäße vor, die bald darauf seltener werden. Die Kollagenfibrillen im perikapillären Bindegewebe sind 20-30 nm dick und bekommen etwa in der 4. Woche eine dem reifen Kollagen entsprechende Querstreifungsperiode von ca. 70 nm. Elastin wird zuerst in die BM zwischen Arterienendothel und der Tunica media eingelagert. In den Pialtrichtern begrenzen - die marginale BM an der marginalen bzw. perivaskulären Glia, die vaskuläre BM an der Gefäßwand- den Bindegewebsspalt, der die ein- oder austretenden Gefäße mit in die Tiefe begleitet. Bei den kleinsten arteriellen Gefäßen liegt zwischen beiden BM-Blättern oft ein dünner leptomeningealer Zellfortsatz. Am arteriellen Schenkel der Kapillaren verschmelzen schließlich beide BM-Blätter zur einheitlich breiten BM der terminalen Strombahn des Cortex. Bei größeren Venen tritt wieder ein zunächst unvollständiger BM-Spalt auf, der sich mit steigendem Kaliber verbreitert.

Parietalcortex:

Nach sieben Tagen postnataler Entwicklung ist das Neuropil des parietalen und frontalen Cortex noch locker gefügt. Die Anzahl dünner Dendritenzweige hat zugenommen. Axodendritische Synapsen sind häufig, axosomatische Synapsen dagegen noch selten. Wo die neuronalen Fortsätze nicht von Gliafortsätzen berührt werden, bestehen oft weite, trianguläre oder polygonale extrazelluläre Räume. Die unreifen Astrocyten bilden dünne lamelläre Fortsätze, die arm an Zellorganellen sind, während die Pericarya über ein gut entwickeltes rauhes ER verfügen.

Auf das starke Wachstum des Cortex in der ersten postnatalen Woche folgt am Ende der zweiten Woche eine intensive Kapillarneubildung. Die Elemente des Neuropils sind trotz gleicher Gewebsfixierung bis auf eine Interzellularspaltbreite von ca. 20 nm zusammengerückt oder lassen nur kleine, zwickelförmige Zwischenräume frei, d.h. der extrazelluläre Raum ist kleiner geworden. Die Anzahl der Synapsen hat stark zugenommen. Glykogengranula, die in der Phase II gehäuft in marginaler und oberflächlicher Glia vorgekommen sind, sind jetzt hauptsächlich in der perivaskulären Astroglia tiefliegender und ventrikelnaher Gefäße. In der marginalen Astroglia 13-tägiger Tiere zeigen sich erstmals Filamente. Enge Interzellularkontakte (gap-junctions) kommen jetzt sowohl zwischen perivaskulären- als auch zwischen marginalen Astrogliafortsätzen vor.

Allgemeine Morphologie der Kapillaren:

In der ersten postnatalen Woche verlieren die Kapillaren die embryonale Morphologie. Die Gefäßwand besteht aus einem einschichtigen, dünnen und porenlosen Endothel, das in wechselndem Umfang von Pericytenfortsätzen bedeckt ist, die in der perivaskulären BM eingeschlossen sind. Im Gegensatz zur Morphologie der Gefäßwandzellen ist die BM kaum

weiter entwickelt und befindet sich noch im Stadium 2, das an den meisten Gefäßen der Phase II vorliegt. Zunächst ist die perivaskuläre Glia noch lückenhaft. Lediglich an größeren arteriellen Gefäßen der tiefen Rindenschichten bildet die perivaskuläre Glia eine fast komplette Hülle und stellenweise enge Interastrocytäre Kontakte. Hier wird die BM zuerst kontinuierlich. Oft sind zwei getrennte BM-Blätter, die eng aneinander liegen, zu erkennen (Abb. 8a). Im Cytoplasma der abgeflachten Gliafortsätze liegen ribosomenbesetzte Vakuolen.

Am Ende der 2. postnatalen Woche sind auch die Kapillaren von perivaskulärer Glia praktisch vollkommen umhüllt. Die BM ist jetzt kontinuierlich (Abb. 7c,d); basale Endothelfüßchen, die sie durchbrechen, sind sehr selten. Die Pericyten bedecken die subendothelialen Oberflächen der Kapillaren mit lamellen- und fingerförmigen Fortsätzen, die zum Teil sehr flach sein können. In Ihrer Fortsetzung bleibt die perikapilläre Fuge (PKS) ein kurzes Stück lang erweitert, wo die BM in ein inneres endotheliales und ein äußeres, an der perivaskulären Glia haftendes Blatt gespalten ist (Abb. 8b). In den ersten beiden postnatalen Wochen ist die prozentuale Bedeckung des Kapillarendothels mit Pericytenfortsätzen sehr variabel. Sie liegt im Durchschnitt zwischen 40 und 50%. Am 20.Tag postnatal haben die starken Schwankungen der Pericytendecke abgenommen, und die prozentuale Bedeckung des Kapillarendothels ist auf ca. 30% abgesunken. Der Kapillardurchmesser ist kleiner geworden. Im Endothelcytoplasma nimmt die Anzahl der Profile des rauhen ER ab, während im Pericyton der Pericyten ein gut entwickeltes rauhes ER bestehen bleibt. Die Überlappung der Endothelzellen sind weniger ausgedehnt. Im engen Interzellularspalt zweier aneinanderstoßender Endothelfortsätze sind in der ersten und zweiten Entwicklungsphase "gap-junctions" erkennbar. Jetzt scheinen stellenweise

auch "tight-junctions" vorzuliegen, obwohl eine Behandlung der Gewebsblöcke mit Uranylacetat vor der Entwässerung nicht vorgenommen wurde, die Voraussetzung für eine eindeutige Unterscheidung ist (nach Brightmann und Reese, 1969).

Vaskuläre BM und Vesikulation:

a) Plakapillaren und Venolen (BM Stadium 3)

In der 3. postnatalen Woche wird in der extrazellulären, filamentären Schicht, die sich an basalen Endotheloberflächen und Pericyten gebildet hat, eine enger vernetzte, kontinuierliche, zuerst etwa 15 nm dicke Lamina densa sichtbar (Abb. 1f). Diese läuft zur darunterliegenden ZM annähernd parallel im Abstand einer unterschiedlich breiten Lamina rara. An Oberflächen, die frei von anliegenden Zellfortsätzen sind, kann die Lamina rara bis zu 30 nm breit sein. Bei nahe aneinanderliegenden Gefäßwandschichten ist dieser elektronendurchlässige, nur wenig Filamente enthaltende Saum bedeutend schmaler. Bei hoher Vergrößerung gleicht das filamentäre Maschenwerk der vaskulären BM, dem der marginalen BM in Phase I (siehe dort). Die Vesikulation im Cytoplasma der Gefäßwandzellen ist gut entwickelt (Abb. 1f). Der Bläschendurchmesser schwankt zwischen 40 und 80 nm.

b) Intracerebrale Kapillaren (BM Stadium 3-4)

In den Kapillaren des Cortex ist die Vesikulation deutlich geringer als in der Pia. Sie hat, verglichen mit der in perinataler Zeit, abgenommen. Die Zellmembranen, die den perikapillären Spalt (PKS) begrenzen, verlaufen kaum noch gewellt (Abb. 7c,d). Im Cytoplasma der Gefäßwandzellen und der perivaskulären Glia liegen vereinzelt runde, mit einem elektronendichten Material gefüllte Vesikel von 40-100 nm Durchmesser (Abb. 7b,d,; Abb. 8b). Ein ähnliches Material kann manchmal auch im PKS beobachtet werden. Dort, wo die perivaskuläre Glia die Gefäße vollständig umhüllt, ist die BM kontinuierlich und einheitlich strukturiert. Das ist bei vielen Kapillaren am Ende der zweiten Woche der Fall. Anfangs ist die Lamina densa eine knapp 10 nm dünne, elektronendichte Schicht, die in der Mitte des rund 20 nm weiten PKS verläuft (Abb. 7c). Wird die Lamina densa schräg angeschnitten, so zeigt sich bei hoher Vergrößerung deutlich ihre wabenähnliche Filamentstruktur. Nach

dem vollständigen Schluß der perivaskulären Glia verdickt sich intracerebral die kapilläre BM. Die Zunahme der BM-Dicke ist nach 20 Tagen postnataler Entwicklung klar feststellbar (Abb. 7e, Abb. 9, Abb. 10) und erstreckt sich in geringem Maß bis in das Erwachsenenalter (Abb. 8c, Abb. 10). Die BM füllt den gesamten PKS meist ohne deutliche Laminæ raræ aus und ist homogener und dichter als die BM der pialen Kapillaren. Ihre Filamente scheinen am äußeren Blatt der "unit-membrane" Struktur verankert zu sein (Abb. 7e; Abb. 8c).

Diskussion

Die Differenzierung der embryonalen Gefäße, die Vaskularisation des Corpus luteum (Carsten 1970) und die Kapillarneubildung während der Wundheilung (Cliff 1963, Schoefl 1964) laufen morphologisch ähnlich ab: Fibroblastenähnliche Zellen werden als unvollständige subendotheliale Schicht in die Gefäßwand einbezogen. Die BM-Bildung ist das erste Anzeichen für die Differenzierung dieser zweiten Wandschicht. Später flachen sich die Endothelien und die Pericyten ab und bekommen glatt begrenzte Oberflächen, wobei die "unreife" Cytoplasmastruktur dieser Zellen verschwindet. Die Reifung der neugebildeten Sprosse, die im Verlauf der Ontogenese allmählich erfolgt und dem Wachstum des ganzen Organs angepaßt ist, erfolgt im erwachsenen Organismus erheblich schneller (Schoefl 1964).

Im leptomeningealen Bindegewebe der Schädelbasis differenzieren sich die muskulären Wandschichten embryonaler Arterien bedeutend früher als parietal und intracerebral. Ein Differenzierungsgefälle besteht zwischen den intracerebralen Kapillaren im Hirnstamm und im Neocortex. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Kapillaren in der Hemisphärenwand und der angrenzenden Leptomeninx bis zur Ausbildung einer kontinuierlichen, dünnen BM (Stadium 3) morphologisch nur wenig voneinander. An leptomeningealen Kapillaren ist die BM unabhängig von umgebenden Gewebsverhältnissen gleichmäßig ausgebildet, während die intracerebrale vaskuläre BM zunächst nur dort entsteht und später kontinuierlich wird, wo sich ein perivaskulärer Gliafortsatz der Gefäßwand anlegt. Stellenweise ist hier das Äquivalent einer epithelialen BM in Form einer zusätzlichen, von der vaskulären BM getrennten, Lamelle zu sehen. Im Gehirn fehlt das perikapilläre Bindegewebe schon embryonal (Wechsler 1965, Breipohl 1968). Dadurch liegen das vaskuläre und das epitheliale Blatt der BM von Anfang an sehr eng aneinander. Die Verschmel-

zung zweier ursprünglich getrennter BM-en ist nicht so klar zu erkennen, wie bei den glomerulären Kapillaren der Niere und an den subepithelialen (alveolären) Oberflächen der Lungenkapillaren (Kurtz 1958, Weibel 1963, Rhodin 1964, Wolff 1963, 1971).

Für die BM-Entwicklung ist demnach die unmittelbare Anwesenheit von Bindegewebe nicht entscheidend. Während der Ontogenese des ZNS und der Niere (Kurtz 1958) ist die BM-Anlagerung dort betont, wo sich die Kapillaranlage an den epithelialen Zellfuß anlegt. Das weist auf eine gegenseitige Beeinflussung beider Zellarten hin. Das Fehlen des perikapillären Bindegewebes ist anscheinend eine Voraussetzung für die Entstehung der dicken BM und für die funktionelle Sonderstellung.

In der dritten postnatalen Woche nimmt die Zahl der Kapillarquerschnitt pro Flächeneinheit rasch bis auf den Erwachsenenwert zu (Caley 1970). Die kapilläre BM verdickt sich jetzt einheitlich, ohne das eine Fusion zweier BM-Blätter zu sehen ist. Mit dieser Verdickung, die an meningealen Gefäßen in dem Ausmaß fehlt, ist auch eine dichtere Vernetzung der Filamente verbunden (Stadium 4). Die Struktur- und Dickenunterschiede zwischen den BM-en leptomeningealer und intracerebraler Kapillaren bilden sich also erst postnatal aus.

Die BM stellt sich bei uns, im Einklang mit den Befunden anderer Autoren (Yamada 1955, Vernier 1964, Wolff 1962, Gekle 1966a, Jørgensen 1967, Merker 1970a, Wolff 1971), als ein Netzwerk feiner Filamente dar, die als ultrastrukturelles Äquivalent des Kollagenproteins, möglicherweise des Tropokollagens angesehen werden (Gekle 1966). Es gibt auch polarisationsoptische Hinweise für eine folienartige, filamentäre Textur der BM (Niessing 1954). Ebenso zeigen die BM-en nach Gewebsaufbereitung durch Gefriertrocknung in der Niere den gewöhnlichen Schichtenaufbau (Lamina densa, Lamina rara; Faarub 1965).

Die dichte Schicht ist hierbei nicht homogen, sondern zeigt siebartige und lamelläre Substrukturen, die den Wabenstrukturen der vorliegenden Befunde entsprechen. Das Auftreten der BM-Filamente im elektronenoptischen Bild wird z.T. auf die Fixierung mit OsO_4 , die Behandlung mit Uranylacetat oder anderen Schwermetallen (Kurtz 1961, Vollrath 1968) oder auf das Einbettungsmedium (Vernier 1964) zurückgeführt. Außerdem wird die BM Ultrastruktur sicher wesentlich durch die Entwässerung beeinflusst. Jedoch scheint unter dem Einfluß der präparativen Maßnahmen die BM-Struktur, speziell der Aufbau aus Filamenten, nicht grundsätzlich verändert zu werden.

Eine wesentliche Frage, die sich aus der morphologischen Betrachtung der Ontogenese intracerebraler Kapillaren ergibt, ist: Wo werden die Bausteine der BM-Kollagene und andere Glykoproteine und -peptide synthetisiert, wenn Bindegewebe im perivaskulären Bereich fehlt? Viele Untersuchungen sprechen für eine Teilnahme des Epithels an der Synthese subepithelialer BM-en (Kurtz 1962, Hay 1963, Gärtner 1966, Kenyon 1969, Blümcke 1969, Pierce 1970, Nadol 1970). Da die Synthese der Peptid- und Proteinanteile an den Ribosomen des rauhen ER vor sich geht (Palade 1954, 1955; Merker 1961, Caro 1964, Porter 1964, Ross 1967), ist für die Zellen, die BM bilden, ein gut entwickeltes rauhes ER erforderlich. Die Bausteine der BM werden wahrscheinlich ebenso wie die der interzellulären Matrix über den Golgiapparat ausgeschleust (Caro 1964, Peterson 1964, Heyning 1965, Neutra 1966, Jamieson 1968). Jedoch werden noch andere Wege, z.B. Ausschleusung direkt aus dem rauhen ER, diskutiert (Karrer 1960, Ross 1965, 1967, Pierce 1970, Merker 1971).

Im rauhen ER des Epithelcytoplasmas ließen sich BM-Antigene nachweisen (Pierce et al. 1963, 1964). Subepitheliale BM-en enthalten ein Antigen, das nicht im Bindegewebe vorkommt. Dieses "epithelspezifische"

BM Antigen liegt als feine Lamelle unmittelbar der Basis epithelialer Zellen an und wird anscheinend von ihnen synthetisiert (Pierce 1964, 1970). Im ZNS entspricht die marginale bzw. perivaskuläre Glia der basalen Epitheloberfläche. Also sind die Gliafüße und -Lamellen an der BM-Bildung beteiligt. Im Cytoplasma der marginalen Glioblasten, die an das perineurale Mesenchym grenzen, liegen glattwandige Vakuolen mit filamentärem, BM-ähnlichen Material, die aus der perinucleären Zisterne entstehen und die mit der marginalen Zellmembran fusionieren können. Ähnliche Strukturen wurden bei der Regeneration nach teilweiser Keratektomie, bei Erkrankungen der Cornea, sowie als Effekt von proteolytischen Enzymen auf Seeigelzeller, die mit Antikörpern behandelt wurden, beschrieben (Kenyon 1969, Metz et al. 1968). Ob Epithelzellen, abgesehen von Glykoproteinen und speziellen BM-Antigenen auch die Kollagenbausteine der BM synthetisieren können, ist umstritten und kann vielleicht nicht allgemein beurteilt werden. Während die Befunde von Pierce (1965) an epithelialen Tumoren *in vitro* und von Hay und Revel (1963) an der regenerierenden Haut von Salamanderlarven für eine epidermale Synthese von Kollagenbausteinen sprechen, scheint das Epithel in embryonalen Zellkulturen von Säugetieren nur einen induzierenden Einfluß auf die Kollagensynthese im Mesenchym auszuüben (Bernfield 1970), und das im Mesenchym entstandene Tropokollagen bei der BM-Bildung lediglich an der epithelialen Oberfläche zu polymerisieren (Kallmann 1965).

Bei der Entwicklung der vaskulären BM ist im Endothel und in den Pericyten ein speziell ausgebildetes rauhes ER zu sehen. Außer gestreckten Profilen von rauhem ER mit filamentärem Inhalt, sind im Cytoplasma glattwandige Vesikel und Vakuolen ohne elektronenmikroskopisch nachweisbaren Inhalt vorhanden. Manchmal münden Profile des rauhen ER in diese Vakuolen. Öffnet sich eine Vakuole zum perivaskulären Spalt oder Raum, so ist an dieser Stelle eine elek-

tronendichte Ausfällung von BM-ähnlichem Material sichtbar. Die Fusion dieser Vakuolen mit der Zellmembran bewirkt eine Oberflächenvergrößerung und Abflachung von Zellfortsätzen (In Analogie zur Vesikulation an Fibroblasten und Endothelien, Wolff 1963 b, 1966) bei gleichzeitiger Ausschleusung einer Substanz, die eine Aggregation von BM-Material verursacht. Das heißt, eine BM in definitiver Struktur scheint erst extrazellulär zu entstehen. In späteren Stadien der BM-Entwicklung findet außerdem eine Ausschleusung dichter Granula statt, die sich deutlich von der Struktur der BM absetzen und daher nicht mit BM-Material identifiziert werden können. Ähnliche, runde elektronendichte Körper wurden im Glomerulum der erwachsenen Niere zwischen Epithel und Lamina densa oder innerhalb der Lamina densa beobachtet (Rosen 1968). Ihre Bedeutung ist unklar. Vielleicht handelt es sich um Enzyme für den BM-Stoffwechsel.

Im Endothel und in den Pericyten der Kapillaren und ebenso in Fibroblastenähnlichen und adventitiellen Zellen in der Leptomeninx sind Abschnitte des rauhen ER bis auf weniger als 10 nm der äußeren Zellmembran angelagert. Seltener fusionieren beide und bilden Poren, die durch Diaphragmen verschlossen sind. Diese Strukturen scheinen ein morphologischer Hinweis auf eine intermittierende Verbindung zwischen ER und Extrazellulärraum zu sein (Porter 1961, Ross 1965).

Die vorliegenden Befunde ergeben einen Anhalt für zwei verschiedene Sekretionswege bei der Ausschleusung von BM-Material aus Kapillarendothel und Pericyten. Auch bei der Sekretion der bindegewebigen Interzellulärsubstanz im Fibroblasten sind die Wege der Glykosaminoglykane oder Proteoglykane einerseits und des Kollagens andererseits intrazellulär getrennt. Die Hauptkomponenten der interzellulären Matrix verbinden sich erst extrazellulär an der Fibroblastenoberfläche (Lit.: Mörker 1970b, 1971).

Im Bereich der corticalen Kapillaren fehlt, wie gesagt, das perikapilläre Bindegewebe. Für die Synthese des Kollagenanteiles der kapillären BM sind zwei Möglichkeiten denkbar: 1.) Das Kollagenprotein wird von Fibroblasten oder ähnlichen Zellen in der Leptomeninge und vom perivaskulären Bindegewebe der Pialtrichter synthetisiert und gelangt beim Einsprossen der Gefäße und durch interzelluläre Spalten bis zu den perikapillären Oberflächen. 2.) Es gibt lokal eine Kollagensynthese im Gehirn. Daran könnten Endothel, Pericyten aber auch die perivaskuläre Glia beteiligt sein.

Wahrscheinlich ist eine kontinuierliche BM eine Barriere für Makromoleküle von der Größe des Tropokollagens (Mol. Gew. 360 000) (Gekle 1966a). Dagegen sind BM-en und enge Interzellularkontakte (gap junctions) für Proteine in der Größenordnung von Peroxidase (Mol. Gew. 40 000) durchlässig (glomeruläre BM: Gekle 1966 a,b,c; Graham 1966; marginale BM: Brightmann 1967, 1969). Die marginale BM wird durch einwachsende Gefäße unterbrochen. Embryonal besteht an diesen Stellen eine offene Verbindung zwischen leptomeningealem Bindegewebe und den interzellulären Spalten des Hirnparenchyms. Postnatal schließt sich die perivaskuläre Glia und die BM der Kapillaren wird kontinuierlich. Darauf folgt eine deutliche BM-Verdickung. Die im Bindegewebe der Pialtrichter gebildeten BM-Bausteine müßten durch den von der BM ausgefüllten perivaskulären Spalt dringen, um an die kapillären Oberflächen zu gelangen. Diese morphologischen Verhältnisse und die oben beschriebenen Sekretionsformen sprechen jedoch für eine lokale Synthese von BM-Bausteinen im Bereich der Hirnkapillaren.

Kollagen oder seine Vorstufen können außer von Fibroblasten auch von einigen anderen Zellarten synthetisiert werden (Lit. s. Pease 1960b, Merker 1970a). Im Nierenglomerulum sind die Mesangiumzellen aktiv am BM-Stoffwechsel beteiligt (Farquar 1962, Gekle 1966a, Körtge 1969). Im Uterus zeigen glatte Muskelzellen

unter Östrogenelwirkung eine Zunahme der Ribosomen und eine Proliferation von Golgi Komplex und rauhem ER und sollen an der Synthese von Bindegewebsproteinen und vielleicht auch Kollagen teilnehmen (Ross 1967). Ebenso sprechen neuere autoradiographische und radiochemische Befunde für einen Kollagenstoffwechsel in der glatten Muskulatur des Magen-Darm Traktes (Grasedyk 1969). Fibroblasten, Pericyten und glatte Muskelzellen gehen ontogenetisch (Karrer 1960) und bei der Kapillarneubildung während der Wundheilung (Cliff 1963, Chrocker 1970) aus einem gemeinsamen mesenchymalen, fibroblastenähnlichen Zelltyp hervor. In der terminalen Strombahn vollzieht sich ein fließender Strukturwandel von fibroblastenähnlichen Pericyten an Kapillaren zu filamenthaltigen glatten Muskelzellen in der Wand von Arteriolen oder Venolen (Hammersen 1971). Pericyten sind anscheinend pluripotente Zellen mit der Möglichkeit, sich in unterschiedliche Zelltypen zu differenzieren (Murad 1968, Hammersen 1971).

Die BM der Hirnkapillaren verbindet die Gefäßwand direkt mit der perivaskulären Glia. In corticalen Kolliquationsnekrosen bleiben nach dem Untergang und der strukturellen Desintegration von Endothel und Glia die BM-en als stabile Schläuche erhalten und können das Eindringen größerer Partikel (z.B. Erythrozyten) in das Parenchym verhindern (Blinzinger 1969). Postmortal bleibt die BM-Struktur noch einige Stunden lang relativ stabil, während sich die umliegenden Zellen bereits deutlich verändert haben (Lazarow 1964). In Hirnhomogenaten bleiben die BM Schläuche bestehen (Wolff und Bruchhausen pers. Mitteilung). Diese Eigenschaften sprechen für eine mechanische Funktion der BM im Sinne eines Mikroskelettes (Pease 1960a). Die BM-en des Gefäßnetzes sind wohl der effektivste Teil eines inneren Gerüsts und geben wahrscheinlich dem Hirngewebe die Stabilität, die früher den Gliafasern zugesprochen wurde (Friede 1954). Eine einseitige mechanische Auslegung kann der

Rolle der BM jedoch nicht gerecht werden. Die physikalischen, physikalisch-chemischen und immunologischen Eigenschaften der BM sind bisher nur in Umrissen untersucht. Sie scheinen aber einen Teil ihrer Organspezifität und möglicherweise auch ihrer Funktion zu bedingen. In der glomerulären BM der Niere steht im Zusammenhang mit der Ultrafiltration die Ausbildung einer bestimmten Porengröße im Vordergrund (Gekle 1965, 1966 b,c). Hier werden von der BM offensichtlich die großmolekularen Stoffe zurückgehalten, obwohl die Permeabilität für Proteine mit unterschiedlicher Molekülgröße auch von den Diaphragmen zwischen den Fußfortsätzen der Deckzellen beeinflusst wird (Graham 1966, Pierce 1969).

Am Aufbau des renalen Filters wird deutlich, daß das Endothel, die BM und das anliegende Epithel (Podocyten) für die Permeabilität von Bedeutung sind. Das scheint auch für die Kapillaren im Gehirn zu gelten (Quadbeck 1957, Hossmann 1965). Nach den Befunden von Peterson (1969) sind embryonale Hirngefäße für Peroxidase permeabel. Ein Grund für eine erhöhte Durchlässigkeit wachsender Kapillaren ist ihre z.T. offene Sproßspitze (Schoefl 1964). Da die Hirnkapillaren von Anfang an keinen perivaskulären Bindegewebsspalt besitzen, kann sein Fehlen nicht mehr als ein allgemeines Merkmal für eine niedrige Proteinpermeabilität gelten, wie es in früheren Arbeiten vermutet wurde (Maynard et al. 1957, Edström 1958, DeRobertis 1961, Wolff 1963, Wechsler 1965). Die Kapillaren im Gehirn von Urodelen sind für Peroxidase impermeabel, gleichgültig ob sie von einem Bindegewebsspalt umgeben sind oder nicht (Bodenheimer 1968). Die ultrastrukturelle Barriere für große Moleküle (z.B. Peroxidase) liegt in den Interzellularkontakten der Endothellen intracerebraler Kapillaren (Reese 1967, Brightman 1969) und in ihrer vergleichsweise geringen Vesikulation (Cervos-Navarro 1964). Den Zeitpunkt der Entstehung von "tight-junctions"

i.S. von Brightman (1969) können wir nicht angeben, weil nicht die dort angegebene Darstellungsmethode angewendet wurde. Die morphologischen Kriterien der Gefäße mit "Blut-Hirnschranke" (Wolff 1963a) entstehen im Neocortex der Ratte zwischen 10. und 20. Tag postnatal. Die Vesikulation nimmt ab, wenn die Kapillarwand durch die BM vollständig an die perivaskuläre Glia fixiert wird. Mit der morphologischen Entwicklung der Kapillarwand ist die Reifung des ZNS zeitlich gekoppelt. Ob die Stoffwechselaktivität des wachsenden Hirnparenchyms oder die Entwicklung der Kapillarwand die Permeabilität der Blut-Hirnschranke primär beeinflussen, läßt sich nicht entscheiden. Das relative Hirngewicht (Mann 1971) - ausgedrückt in % des Körpergewichtes - erreicht etwa am 10. Tag p.n. ein Maximum, das in den folgenden Tagen rasch abfällt ("growth spurt": Dobbing 1968). Gleichzeitig nimmt die Größe des extrazellulären Raumes stark ab (C^{14} -Inulin-Raum: Vernadakis 1965; morphometrische Bestimmungen: Bondareff 1968, Pysh 1969). Nach 14 Tagen postnataler Entwicklung sind das Neuropil und die Synapsen strukturell weitgehend ausgereift (Voeller 1963, Schwarz et al. 1968), das Spontan-EEG und die KCL-induzierte "spreading depression" entsprechen dem erwachsenen Typ (Deza 1967).

Die Blut-Hirnschranke ist eine spezielle Blut-Gewebsschranke im Organismus und ist letztlich ein Problem der Zellmembran-Permeabilität. Die Stellung der BM in diesem System und die Bedeutung ihres Gehaltes an Ribonucleinsäure (Misra 1969) und ihrer Enzymaktivitäten (Torack 1964; Lit. s. Hammersen 1971) bleiben noch unklar.

Zusammenfassung

Abschnitte des Parietalcortex und der angrenzenden Leptomeninx von insgesamt 47 Wistar Ratten wurden im Verlauf der Ontogenese, vom 11. Embryonaltag bis zum 20. Tag postnatal und bei erwachsenen Tieren, licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Entwicklung der Hemisphärenwand wurde in 3 Phasen eingeteilt:

- I.) Frühentwicklung und erste Vaskularisation der sich stark verdickenden Hemisphärenwand, die von Gefäßsprossen des perineuralen Plexus ausgeht (11.-16. Embryonaltag).
- II.) Entwicklung und Zelldifferenzierung der Rindenschichten, Auswachsen neuronaler Fortsätze unter Verengung der Interzellularspalten, Differenzierung der Pericyten und Abflachung der Kapillarewand. (17. Embryonaltag - 7. Tag postnatal).
- III.) Schnelle Kapillarproliferation, verminderte Wachstumsrate des Cortex, Myelinisierung der Axone: Ausbildung der reifen Kapillarstruktur der Bluthirnschranke und Eintritt der funktionellen Reifung (10.-20. Tag postnatal).

Abhängig von der Differenzierung des Kapillarendothels, der Pericyten und der perivaskulären Glia, sowie dem Wachstum und dem ontogenetischen Entwicklungsstand des Hirnparenchyms, entsteht die kapilläre BM, deren Morphogenese in 4 Stadien erfolgt.

- 1) Im Spalt zwischen Gefäßwand und perivaskulären Zellfortsätzen sind lokal Aggregationen feiner Filamente sichtbar, die nur zum Teil an den Zellmembranen haften.
- 2) Ein dünnes Netzwerk ungeordneter Filamente bedeckt die perivaskulären Oberflächen.

- 3) Die BM-Filamente ordnen sich oberflächenparallel zur Zellmembran an. Es entsteht die selektiv uniplanare Anordnung der Filamente und eine von der Zellmembran abgesetzte kontinuierliche Lamina densa.
- 4) Intracerebral erfolgt postnatal eine Verdickung und Verdichtung der kapillären BM, die an meningealen Kapillaren weitgehend fehlt.

Während der BM-Entwicklung werden von den perinucleären Zisternen und dem ER der anliegenden Zellen (Endothel, Pericyten, adventitielle Zellen und perivaskulärer Glia) Strukturen entwickelt, die anscheinend mit einer Sekretion spezieller Proteine und Glykoproteine in Beziehung stehen. Die verschiedenen Sekretionsformen (Endothel und Pericyten: ER-Anlagerung an die Zellmembran, Porenbildung zwischen ER und Zellmembran, Ausschleusung dichter Granula und filamenthaltiger Vakuolen, die in embryonalen Glioblastenfortsätzen aus der Kernmembran entstehen), werden im Zusammenhang mit der zellulären Genese der BM-Bausteine und ihrer Biochemie besprochen. Außerdem werden diskutiert: Die BM-Entwicklung an leptomeningealen und intracerebralen Gefäßen und ihre Beziehung zur Differenzierung der angrenzenden Zelloberflächen, die Filamentstruktur und die Funktion der BM.

Literatur

- BERNFELD, M.R.: Collagen synthesis during epitheliomesenchymal interactions. - Develop. Biol. 22, 213-231 (1970)
- BLINZINGER, K.; A.MATSUSHIMA and A.P. ANZIL.: High structural stability of vascular and glial basement membranes in areas of total brain tissue necrosis. - Experientia 25, 976 (1969)
- BLOODWORTH, J.M.B.; R.L. ENGERMAN and K.L. POWERS.: Experimental diabetic microangiopathy. - I Basement membrane statistics in the dog. - Diabetes 18, 455-458 (1969)
- BLÜMCKE, S.; J. RODE und H.R. NIEDORF.: Formation of the basement membrane during regeneration of the corneal epithelium. - Z. Zellforsch. 93, 84-92 (1969)
- BODENHEIMER, T.S. and M.W. BRIGHTMAN.: A blood-brain barrier to peroxidase in capillaries surrounded by perivascular spaces. - Amer. J. Anat. 122, 249 (1968)
- BOGOLEPOV, N.N.: Development of the brain capillaries Arkh. Anat. Gistol. Embriol. 52/6, 83-89 (1967)
- BONDAREFF, W. and PYSH, J.: Distribution of the extracellular space during postnatal maturation of rat cerebral cortex. - Anat. Rec. 160, 773-780 (1968)
- BREIPOHL, W.: Entwicklung und gliöse Beziehungen der Basalmembran der Kapillaren des Mäusegehirns. - Acta anat. 69, 393-408 (1968)
- BRIGHTMANN, M.W.: Intracerebral movement of proteins injected into blood and cerebrospinal fluid. - Anat. Rec. 157, 219a (1967)

BRIGHTMAN, M.W. and T.S. REESE.: Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. - Cell Biol. 40, 648-677, (1969)

v.BRUCHHAUSEN, F.: Biochemie der Kapillarwand. - In: Int. Symp. Biochemie der Gefäßwand, Fribourg 1968, 2, 114-144

CALEY, D.W. and D.S. MAXWELL.: Development of the blood vessels and extracellular spaces during postnatal maturation of rat cerebral cortex. - J. Comp. Neur. 138, 31-48 (1970)

CARO, L.C. and G.E. PALADE.: Protein synthesis, storage and discharge in the pancreatic exocrine cell. - Autoradiographic study J.Cell Biol. 20, 473-495 (1964)

CARSTEN, P.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an menschlichen Corpora lutea. - Habil. Arb. Freie Universität Berlin (1970)

CERVOS-NAVARRO, J.: Die Bedeutung der Elektronenmikroskopie für die Lehre vom Stoffaustausch zwischen dem Zentralnervensystem und dem übrigen Körper. - Dtsch. Z. Nervenheilk. 186, 209-237 (1964)

CHOW, A.Y.K. and K.N. DRUMMOND.: Incorporation and hydroxylation of proline -3-4-H³ as an index of glomerular basement membrane synthesis in normal and nephrotoxic nephritic rats. - Lab. Invest. 20, 213-218 (1969)

CHROCKER, D.J.; T.M. MURAD and J.C. GEER.: Role of the pericyte in wound healing (an ultrastructural study) - Exp. Mol. Pathol. 13, 51-65 (1970)

- CLIFF, W.J.: Observations on healing tissue. A combined light and electron microscopic investigation. - Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B Biological Sciences No. 733, 246, 305-325 (1963)
- DELORME, P.; G.GRIGNON et J.GAYET.: Ultrastructure des capillaires dans le télencéphale du poulet au cours de l'embryogenèse et de la croissance postnatale. - Z.Zellforsch. 87, 592-602 (1968)
- De ROBERTIS, E. and H.M. GERSCHENFELD.: Submicroscopic morphology and function of glial cells - Internat. Rev. of Neurobiol. 3, 1-65 (1961)
- DEZA, L. and E.EIDELBERG.: Development of cortical electrical activity in the rat. - Exptl. Neurol., 17, 425-438 (1967)
- DOBBING, John: The Development of the blood-brain barrier. - In: Brain Barr. Syst. 1968 (ed. Lajtha Elsevier Publ. Comp.) 417-424
- DONAHUE, S. and D.G. PAPPAS: The fine structure of capillaries in the central cortex of the rat at various stages of development. - Amer. J. Anat. 108, 331-347 (1961)
- DONAHUE, S.: A relationship between fine structure and function of blood vessels in the central nervous system of rabbit fetuses. - Amer. J. Anat., 115, 17-26 (1964)
- EDSTRÖM, R.: An explanation of the blood brain barrier. - Acta psychiatr. scand. 33, 403-412 (1958)
- FAARUP, P. and H.E.CHRISTENSEN.: Substructures in basement membranes of the renal medulla studied in freeze-dried tissue. - Acta path. et microbiol. scandinav. 64, 71-82 (1965)

- FARQUHAR, M.G. and PALADE, G.E.: Functional evidence for the existence of a third cell type in the venal glomerulus. - J. Cell Biol. 13, 55-87 (1962)
- FREDERICKSON, R. G. and F.N. LOW.: Blood vessels and tissue space associated with the brain of the rat. - Am. J. Anat.125, 123-146 (1969)
- FRIEDE, R.: Der quantitative Anteil der Glia an der Cortexentwicklung. - Acta anat. (Basel) 20, 290-296 (1954)
- GÄRTNER, J.: Über BM-veränderungen nach traumatischer Läsion der Netzhaut beim Menschen. - Acta Neuropathol. 7, 125-135 (1966)
- GEKLE, D. und H.J. MERKER.: Neue Vorstellungen über Struktur und Funktion der glomerulären BM Der Niere. - Klin.Wschr.44, 1217-1224 (1966) a
- GEKLE, D.; F.v.BRUCHHAUSEN und G.FUCHS.: Untersuchungen über die Verteilungsräume isolierter Basalmembranen der Nierenrinde von gesunden und nephrotischen Ratten. - IV. Sym. Ges. Nephrol. Saarbrücken/Homburg (1965), Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1966) b
- GEKLE, D.; F.v.BRUCHHAUSEN und G.FUCHS.: Über die Größe der Porenäquivalente in isoliertem Basalmembranen der Rattenniere. - Pflügers Arch. ges. Physiol. 289, 180 (1966) c
- GRAHAM, R.C. and KARNOVSKY, M.J.: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. - J. Exp. Med. 124, 1123-1134 (1966)

- GRASEDYCK, K.; U. WULFF und J. ROCHOVA.: Autoradiographische und radiochemische Befunde zur Kollagensynthese des Magen- Darmtraktes. - Verh. Dtsch. Ges. Path. 53 209-215 (1969)
- HAGER, H.: Die feinere Cytologie und Cytopathologie des Nervensystems dargestellt auf Grund elektronenmikroskopischer Befunde. - Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1964)
- HAMA, K.: The fine structure of some blood vessels of the earthworm, *Eisenia foetida* - J. Bio-phys. Biochem. Cytol. 7, 717-724 (1960)
- HAMMERSEN, G.: Anatomie der terminalen Strombahn.- Muster-Feinbau-Funktion. - Urban u. Schwarzenberg-München, Berlin, Wien (1971)
- HAY E.D. and J.P. REVEL.: Autoradiographic studies of the origin of the basement lamella in amblystoma. - Develop. Biol. 7, 152-168 (1963)
- HEYNINGEN, H.E.: Sekretion of protein enzymes by the acinar cells of the rat pancreas. - Internat. Soc. for Cell Biology Symposia 4, 261-271 (eds. CP. Leblond and C.B. Warren) The use of radioautography in investigating protein synthesis. New York, Academic Press (1965)
- HIS, W.: Die Entwicklung des menschlichen Gehirns während der ersten Monate. - Verl. S. Hirzel, Leipzig (1904)
- HOSSMANN, K.A. und W. WECHSLER.: Elektronenmikroskopische und autoradiographische Studien über die Mechanismen der Blut- Hirnschranke. - Verh. dtsch. Ges. Path. 49, 350-357 (1965)

- JAMIESON, J.D. and G.E. PALADE.: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cells. III. Dissociation of intracellular transport from protein synthesis. - J. Cell Biol. 39, 580-588 (1968)
- JØRGENSEN, F.: Electron microscopic studies of normal glomerular basement membrane - Laboratory Investigation, 17, No.4 416-424 (1967)
- KALLMAN, F. and C. GROBSTEIN,: Source of collagen at epitheliomesenchymal interfaces during inductive interaction. - Develop Biol. 11, 169-183 (1965)
- KARRER, H.E.: Electron microscopy study of Developing chick embryo aorta. - J. Ultrastruct. Res. 4, 420-454 (1960)
- KEFALIDES, N.A.: Comparative biochemistry of mammalian basement membranes. In: Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix. (ed. by Balazs) 1, 535-573 (1970) Academic Press, London, New York
- KENYON, K.R.: The synthesis of basement membrane by the corneal epithelium in bullous keratopathy. - Invest. Ophthalm. 8, 156-168 (1969)
- KIMMELSTIEL, P.: Structural Basis of Renal Disease (eds.: Becker, Hooper, Medical Div., New York, Evanston, London) 462 (1968)
- KLINGER, G. und G.GEYER.: Histochemische Untersuchungen an renalen Basalmembranen während der Entwicklung. Acta histochem. , 21, 261-267 (1965)

- KLÖPPEL, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Beginn der Basalmembran- und Fibrillenbildung im Interzellularraum früher Hühnerembryonen. - Dissertation an der Freien Universität Berlin (1969)
- KÖRTGE, P.; SCHÜRHOLZ, J. und A. SCHÖLL.: Über den Beitrag der Mesangiumzellen und der Glomerulumdeckzellen an der Bildung der BM der Glomerulumkapillaren. - Verh. Dtsch. Ges. Path. 53, 384-389 (1969)
- KUPFER, G. und G. GEYER.: Histochemische Studien an Basalmembranen von einigen Säugetieren. - Acta histochem. 31, 24-35 (1968)
- KURTZ, S.M.: The electron microscopy of the developing human renal glomerulus. - Exp. Cell Res. 14, 355-367 (1958)
- KURTZ, S.M.: The fine structure of the lamina densa. - Lab. Invest. 10, 1189-1208 (1961)
- KURTZ, S.M. and J.D. FELDMAN.: Experimental studies on the formation of the glomerular basement membrane. - J. Ultrastructure Re. 6, 19-27 (1962)
- LAZAROW, A. and E. SPEIDEL.: Chemical composition of the glomerular basement membrane. - In: small blood vessel involvement in diabetes mellitus 127-150 (1964)
M.D. Siperstein, et al., eds. Americ. Inst. of Biological Sci., Washington, D.C. 201
- LOW, F.N.: A boundary membrane concept of ultrastructure applicable to the total organism. III. Europ. Reg. Conf. on electron microscop. Prag B. 115-116 (1964) (Ed. Titlbach, Publ. house of the czechoslovak Academy of Sci.)

- MANN, E. ; H.KEWITZ und G. PLEUL.: Anstieg der AcetylcholinKonzentration während der Entwicklung und Differenzierung des Gehirnes bei der Ratte. - Sonderforschungs- bereich 29: Jahresbericht 1969/70 , 244-249 F.U. Berlin (1971)
- MAYNARD, E. A.; R.L.SCHULTZ and D.C. PEASE.: Electron microscopy of the vascular bed of rat cerebral cortex. - Am. J. Anat. 100, 409-433 (1957)
- MERKER, H.J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in der Haut menschlicher Embryonen. - Z.Zellforsch. 53, 411-430 (1961)
- MERKER, H.J. und H.VILLEGAS.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem des Stoffaustausches zwischen Mutter und Keim bei Rattenembryonen des Tages 7-10. - Z. Anat. Entwickl. -Gesch. 131, 325-346, (1970) a
- MERKER, H.J. und W. SCHWARZ.: The fine structure of connective tissue formation. - In: Metabolic pathways in mammalian embryos during organogenesis and its modification by drugs. I. Symposium des S.F.B. 29 Embryonalpharmakologie (1970 b) im Druck.
- MERKER, H.J. und K.STRUWE.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Sekretion der bindegewebigen Interzellularsubstanz. - Z.Zellforsch. 115, 212-225 (1971)
- METZ, C.B. ; M.V.CONE and J.BRYANT.: Effect of proteolytic enzymes on the ultrastructure of antibody-treated sea urchin eggs. - J. Cell Biol. 39, 481-484 (1968)

- MISRA, R.P. and L.B. BERMAN.: Glomerular basement membrane: insights from molecular models. - Am. J. Med. 47, 337-339 (1969)
- MURAD, T.M. and E. von HAAM.: An ultrastructural study of pericytes. - Proceedings electron microscopy Society of America. 26th annual meeting 66-67 (1968)
- NADOL, J.B.; J.R. GIBBINS and K.R. PORTER.: A reinterpretation of the structure and development of basement lamella: an ordered array of collagen in fish skin. - Develop. Biol. 20, 304-331 (1969)
- NADOL, J.B.; J.R. GIBBINS.: Autoradiographic evidence for epithelial origin of glucose-rich components of the basement membrane (basal lamina) and basement lamella in the skin of fundulus heterochritus. - Z. Zellforsch. 106, 398-411 (1970)
- NELSON, E.; K. BLINZINGER and H. HAGER.: Electron microscopic observations on subarachnoid and perivascular spaces of the syrian hamster brain. - Neur. 11, 285-295 (1961)
- NEUTRA, M. and C.P. LEBLOND.: Radioautographic comparison of the uptake of galactose-H³ and glucose-H³ in the Golgi region of various cells secreting glykoproteins or mucopolysaccharides. - J. Cell Biol. 30, 137-150 (1966)
- NIESSING, K. und H. ROLLHÄUSER.: Über den submikroskopischen Bau des Grundhäutchens der Hirnkapillaren. - Z. Zellf. 39, 431-446 (1954)

- PAPPAS, G.D. and D.P. PURPURA.: Electron microscopy of immature human and feline neocortex. - Progr. in brain Res. Vol. 4, growth and maturation of the brain. 176-186 (1964) D.P. Purpura and J.P. Schädé Eds. Amsterdam Elsevier
- PALADE, G.E. and K.R. PORTER.: Studies on the endoplasmic reticulum . I. Its identification in cells in situ. - J. exp. Med. 100, 641-656 (1954)
- PALADE, G.E.: A small particulate component of the cytoplasm. - J. biophys. biochem. Cytol. 1, 59-68 (1955)
- PEASE, D.C.: The basement membrane: substratum of histological order and complexity. - 4. Internat. Kongr. Elektronenmikroskopie 1958, Bd. II, 139-155, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, (1960) a
- PEASE, D.C. and S.MOLINARI.: Electron microscopy of muscular arterus. Plal vessels of the cat and monkey.- J. Ultrastructure Res. 3 447-468 (1960)b
- PEASE, D.C.: Polysaccharides associated with the exterior surface of epithelial cells: kidney, intestine, brain. - J. Ultrastructure Res. 15, 555-588 (1966)
- PETERSON, M. and C.P. LEBLON.: Synthesis of complex carbohydrates in the golgi region as shown by radioautography after injection of labelled glucose. - J. Cell Biol. 21 143-148 (1964)

- PETERSON, R.G.: Vascularization and basement membranes of the chick brain in light microscopy. - Anat. Rec. 161, 37-44, (1968)
- PETERSON, R.G.: Vascular permeability to horse-radish peroxidase in the developing chick brain. - Anat. Rec. 163 , 341 (1969)
- PETRY, G. und KÜHNEL.: Beitrag zur Kenntnis des Baues von Basalmembranen. - Z.Zellforsch. 64, 533-540 (1969)
- PIERCE, G.B.; A.R. MIDGLEY and J.SRI RAM.: The histogenesis of basement membranes. - J. Exptl. Med. 117, 339-348 (1963)
- PIERCE, G.B.; T.F.BEAS, J. SRI RAM and A.R.MIDGLEY: Basement membranes . IV Epithelial origin and immunologic cross reactions. - Am. J. Path. 45, 929-961 (1964)
- PIERCE, G.B.: Basement membranes. VI synthesis by epithelial tumors of the mouse. - Cancer Res. 25, 656-669 (1965)
- PIERCE, G.B.: Development of basement membranes in the mouse embryo. - Develop. Biol. 13, 231-249 (1966)
- PIERCE, G.B. and P.K.NAKANE.: Basement membranes. Synthesis and deposition in response to cellular injury. - Lab. Invest. 21, 27-41 (1969)
- PIERCE, G.B.: Epithelial basement membran: Origin, development and role in disease. - In: chemistry and molekular biology of the Inter cellular matrix. (ed. Balazs) 1, 471-506 (1970) Academic Press, London New York

- PORTER, K.: The ground substance; observation from electron microscopy. In: The cell (eds. Brachet, J. A. Mirsky) 2, 621-676 (1961)
- PORTER, K.R.: Cell fine structure and biosynthesis of intercellular macromolecules. - *Bioophys. J.* 4, 167-196 (1964)
- PYSH, J.J.: The postnatal development of the extracellular space in rat inferior colliculus: an electron microscopic study. - Ph.D. Dissertation. Northwestern University. *Am J. Anat.* 124, 411-430 (1969)
- QUADBECK, G. und H. HELMCHEN.: Die Blut-Hirn-Schranke. - *Dtsch. med. Wschr.* 82, 1377-1382 (1957)
- REESE, T.S. and M.J. KARNOVSKY.: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. - *J. Cell Biol.* 34, 207-216 (1967)
- RHODIN, J.A.G.: In: small blood vessel involvement in diabetes mellitus (M.D. Siperstein et al. eds). - *Amer. Institute of Biological Sciences*, Washington D.C. 201 74-75 (1964)
- ROSEN, S. and C.C. TISHER.: Observations on the Rhesus Monkey Glomerulus and Juxtaglomerular apparatus. - *Lab. Invest.* 18, 240-248 (1968)
- ROSS, R.: Synthesis and secretion of collagen by fibroblasts in healing wounds. - *Internat. Soc. for Cell Biology Symposia* 4, 273-292 (1965). (eds. C.P. Leblond and C.B. Warren) The use of radioautography in investigating protein synthesis. New York: Academic Press

- ROSS, R. and S.J. KLEBANOFF.: Fine structural changes in uterine smooth muscle and fibroblasts in response to estrogen. - J.Cell Biol. 32, 155-167 (1967)
- SCHOEFL, G.J.: Electron microscopic observations on the regeneration of blood vessels after injury. - Annals of the New York Academy of Sciences 116, 789-802 (1964)
- SCHWARZ, I.; G.D. PAPPAS and D.PURPURA.: Fine structure of neurons and synapsis in the feline hippocampus during postnatal ontogenesis. - Exp. Neurol. 22, 394-407 (1968)
- SCOTT, E.B. : Modification of the basal architecture of renal tubule cells in aged rats. - Exp. Biol. Med. 117, 586-590 (1964)
- SHIRAI, T. and M.TAKASUGI.: Variation of thickness of glomerular basement membrane in various experimental circumstances. - Separatum Experientia 25, 1071-1073 (1969)
- SPIRO, R.G.: Biochemistry of basement membranes. In: Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix. (Balazs ed.) 1, 511-534 (1970) Academic Press, London, New York
- SWIFT, J.A. and C.A. SAXTON.: The ultrastructural location of the periodate - Schiff reactive basement membrane at the dermo-epidermal junctions of human scalp and monkey gingiva. - J. Ultrastructure Res. 17, 23-33 (1967)
- TANI, E. and S. ISHII.: Ontogenetic studies on the rat brain capillaries in relation to the human brain tumor vessels. - Acta neuropath. 2, 253-270 (1963)

- TORACK, R.M. and R.J. BARNETT.: The fine structural localization of nucleoside phosphatase activity in the bloodbrain barrier.- J. Neuropath. exp. Neurol. 23, 46-59 (1964)
- VERNADAKIS, A. and D.M. WOODBURG.: Cellular and extracellular spaces in developing rat brain. - Arch. Neurol. 12, 284-293 (1965)
- VERNIER, R.L.: Electron microscopic studies of the normal basement membrane. In: small blood vessel involvement in diabetes mellitus. (ed. by Siperstein, M.D., A.R. Colwell and Meyer, K. - American Institute of biological sciences, Washington, D.C. 57-63 (1964)
- VOELLER, K. and G.D. PAPPAS.: Electron microscopic study of development of cat superficial neocortex. - Exp. Neurol., 7, 107-130 (1963)
- VOLLRATH, L.: Über Bau und Funktion von Basalmembranen. - Dtsch. med. Wchr. 93, 360-365 (1968)
- VRACKO, R. and E.P. BENDITT.: Capillary basal lamina thickening. Its relationship to endothelial cell death and replacement. - J. Cell Biol. 47, 281-285 (1970)
- WECHSLER, W.: Die Entwicklung der Gefäße und perivaskulären Gewebsräume im Zentralnervensystem von Hühnern. Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Kenntnis der morphologischen Grundlagen der Blut-Hirnschranke während der Ontogenese. - Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 124, 367-395 (1965)
- WEIBEL, E.R.: Morphometry of the human lung. Academic Press, New York (1963)

- WISLOCKI, G.B. and E.H. LEDUC.: Vital staining of the hematoencephalic barrier by silver nitrate and trypan blue, and cytological comparison of the neurohypophysis, pineal body, area postrema, intercolumnar tubercle and supraoptic crest. - J. Comp. Neur. 96, 371-413 (1952)
- WOLFF, J.R.: Neuere Vorstellungen über die Feinstruktur der Kapillarwand und ihre funktionelle Deutung. - Berl. Med. 13 19-32 (1962)
- WOLFF, J.R.: Beiträge zur Ultrastruktur der Kapillaren in der normalen Großhirnrinde. - Z. Zellforsch. 60, 409-431 (1963a)
- WOLFF, J.R.: Elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Entstehung von Fibrocytenfortsätzen durch Vesikulation. - 58. Verh. d. Anat. Ges. Genua 1962. Erg.: H.-Bd. 112, 341-357 (1963b) Anat. Anz.
- WOLFF, J.R.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Vesikulation im Kapillarendothel. - Z. Zell-forsch. 73, 143-164 (1966)
- WOLFF, J.R. und St. NEMECEK. : Über kollagenhaltige "perivaskuläre" Räume an "Kapillaren" in der Medulla oblongata des Rhesusaffen. - Experientia 24, 930 (1968)
- WOLFF, J.R.: Ultrastruktur der Kapillarwand im Lehrbuch der Physiologie in Einzeldarstellungen. Bd. "Kreislauf" (eds. Trendelenburg, Schütz) Springer Verlag im Druck (1971)

- WOOLLAM, D.H.M. and J.W. MILLEN.: Perivascular spaces of the mammalian central nervous system. - Biol. Rev. 29, 251-283 (1954)
- YAMADA, E.: The fine structure of the renal glomerulus of the mouse. - J. Biophys. Biochem. Cytol. 1, 551-566 (1955)
- YAMASHITA, T. and B.BECKER.: The basement membrane in the human diabetic eye. - Diabetes 10, 167-174 (1961)
- ZEMAN, W. D. KARCHER, N.CHAMOLES and A.LÖWENTHAL: Studies on alpha albumin in nervous. III Observations on pathological specimens. - Brain Res. 17, 325-334 (1970)

Legenden

Abb. 1 Entwicklung Intra- und extracerebraler BM-en.

a-c: Kapillaranschnitte aus der lateralen Hemisphärenwand, bzw. dem Parietalcortex.

a) Stadium 1 (14. Embryonaltag)

Im Spalt zwischen Endothel (E) und perivaskulären Zellfortsätzen (Z) ist feinfilamentäres BM-Material lokal angehäuft (↓). Es haftet z.T. an der Zellmembran. Beachte die zahlreichen freien Ribosomen im Endothel (O) und die elektronendichten Einschlüsse in einem perivaskulären Zellfortsatz (*). (Vergr.: 60 000:1)

b) Stadium 2 (17. Embryonaltag)

Das BM-Material (↓) ist auf den perivaskulären Oberflächen ausgebreitet und bildet streckenweise kleine Lamellen. Das Endothel hat einen geringeren Gehalt an Ribosomen (O). Zwischen Endothel und Pericyt (P) liegen Zellfortsätze, die keiner der beiden Zellen sicher zuzuordnen sind (*). (Vergr.: 45 000:1)

c) Stadium 3 (7 Tage postnatal)

Zwischen äußerer Gefäßwandschicht (Pericytenfortsatz = P) und Glioblasten (G) stellen sich zwei getrennte, kontinuierliche BM-Lamellen (Laminae densae) dar, die in einem bestimmten Abstand (Lamina rara) parallel zur Zellmembran verlaufen (↓). Beachte das gut entwickelte raue ER (*) und die zahlreichen Ribosomen (O) im Cytoplasma des perivaskulären Glioblasten. (Vergr.: 90 000:1)

d-f: Marginale und vaskuläre BM-en im Leptomeningealraum.

d) Stadium 3 (11. Embryonaltag)

Anschnitt eines marginalen Glioblasten. Marginale BM: In der Lamina densa (↓) verlaufen die Filamente ungeordnet, jedoch überwiegend parallel zur Zellmembran. In ihr sind die Filamente enger vernetzt als in der Lamina rara (↓), in der die Filamente bevorzugt senkrecht zur Zellmembran verlaufen. (Vergr.: 70 000:1)

e) Stadium 2 (7 Tage postnatal)

BM an einer endothelialen Oberfläche (E) einer leptomeningealen Kapillare. BM-Material liegt als dünne, unregelmäßige Schicht auf der Zellmembran (↓). Eine einheitliche Lamina densa hat sich noch nicht entwickelt. (Vergr.: 52 000:1)

f) Stadium 3 (20 Tage postnatal)

Wandabschnitt einer kleinen Vene. Zwischen Endothel (E) und Pericyt (P) liegt eine dünne, zum Teil noch unterbrochene Lamina densa (↓), während die zum Bindegewebe weisende Oberfläche des Pericyten (P) von einer kontinuierlichen BM bedeckt ist (↓). Im Cytoplasma der Gefäßwandzellen: zahlreiche Pinocytosevesikel (*), wenig ER und Ribosomen. Im Pericytenfortsatz liegen, an der endothelialen Seite, cytoplasmatische Filamente (F). (Vergr.: 60 000:1)

Beachte die strukturelle Ähnlichkeit der BM-en in den Bildern c, d und f.

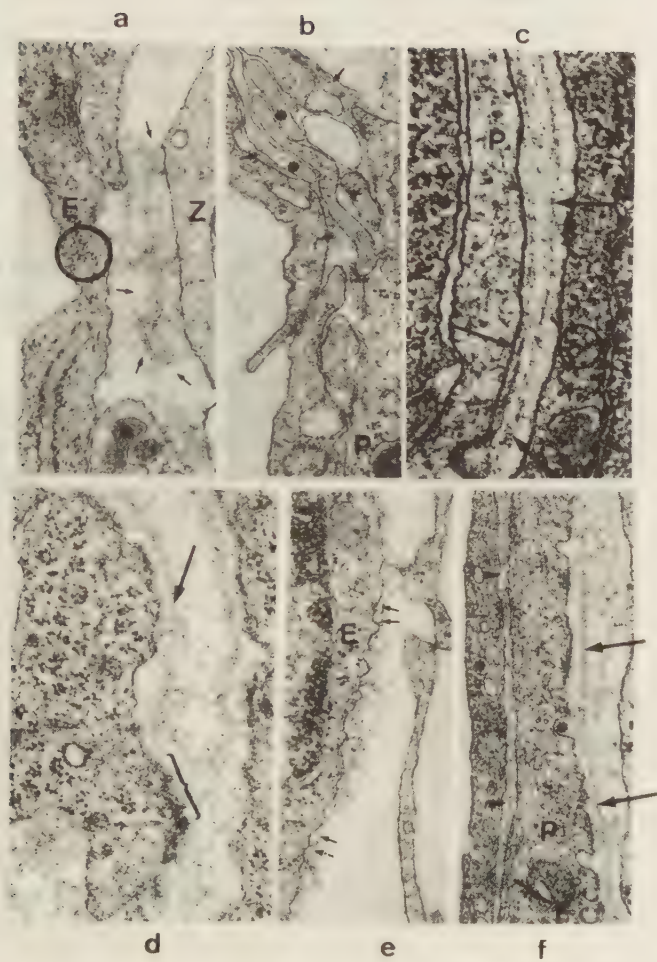


Abb. 2 Halbschematische Darstellung der Beziehung zwischen Gefäßwandmorphologie und BM Bildung.

(Endothel, Pericyten: schwarz; Zellkerne: schraffiert; perivaskuläre Glia: weiß umrandet, Basalmembran: (xx))

1. primitives, wenig differenziertes Gefäß:
weit in das Lumen vorgewölbte Endothelzellkerne, gefaltete, unruhige Oberflächen - erste Anlagerung von BM-Material.
2. reifendes Gefäß:
Abflachung der Kerne der Gefäßwandzellen, Pericyten als unvollständige zweite Wandschicht, zunehmende Entwicklung der perivaskulären Glia - BM-Bildung bis zur diskontinuierlichen Lamina densa.
3. morphologisch reifes Gefäß:
komplette perivaskuläre Gliahülle, abgeflachte, glatte Gefäßwandzellen, abnehmende Pericytenbedeckung der Endotheloberfläche - kontinuierliche und gleichmäßig elektronendichte BM.

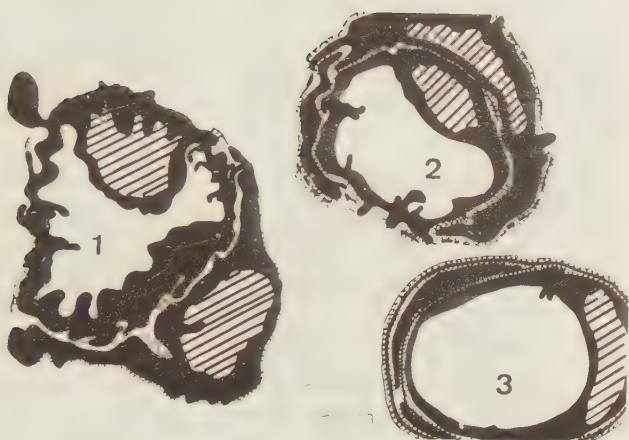


Abb. 3 a-c: Längsschnitte durch in die Hemisphärenwand einwachsende Gefäße.

(14. Embryonaltag)

- a) Das Gefäß im perineuralen Mesenchym (*) verläuft dicht an der Oberfläche der Hemisphärenwand. Unter der Membrana limitans externa (↓) ist nur ein schmaler Randschleier (R) angedeutet. Das eintretende Gefäß verzweigt sich in der Matrixzone. Eine Endothelzelle befindet sich in Mitose (♥).
lichtmikroskopische Aufnahme;
(Vergr.: 500:1)
- b) Im oberflächennahen Bereich besitzt das Gefäß einen perikapillären Spalt (↕), in dem einzelne Retikulinfibrillen (F), Filamente und mesenchymale Zellausläufer vorkommen. Die marginale BM (▼) ist gut entwickelt und kontinuierlich, während die vaskuläre BM (▽) nur streckenweise angedeutet ist.
Membrana limitans gliae (f).
(Vergr.: 15 000:1).
- c) Das rechte Drittel des Bildes zeigt Zellen des perineuralen Mesenchyms (M). Eine Endothelzelle (E) liegt dicht an der marginalen BM (↓), die eine trichterförmige Einstülpung begrenzt, die Fibrillen und mesenchymale Zellfortsätze enthält (♥). Die marginale Glia ist stellenweise lückenhaft, aber im Verlauf der Einstülpung vollständig von BM bedeckt.
(Vergr.: 9 000:1)

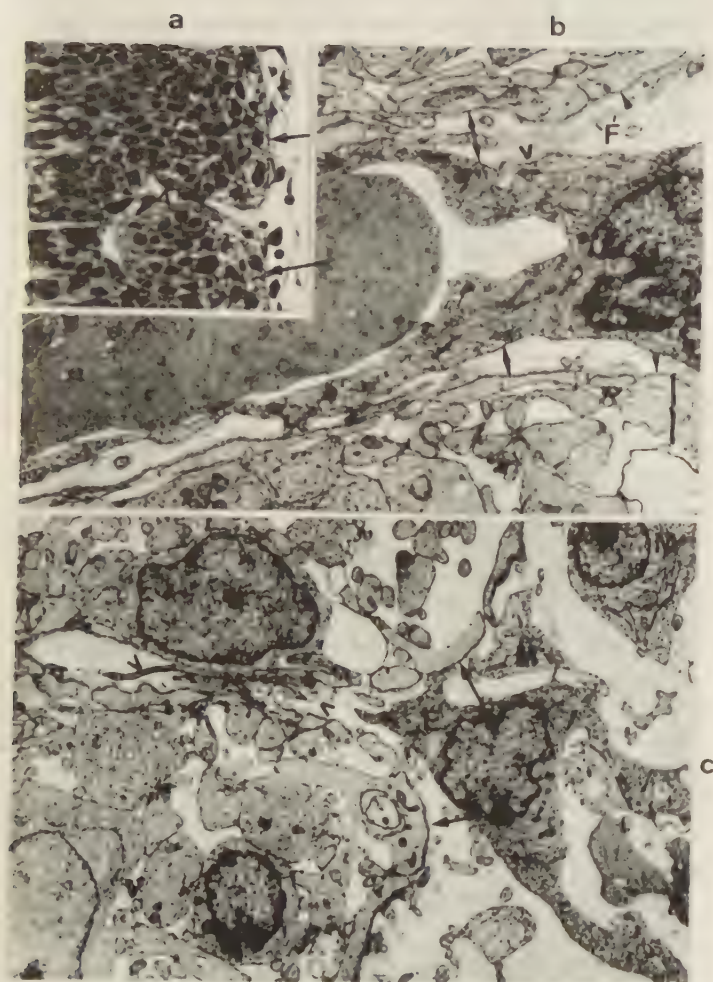
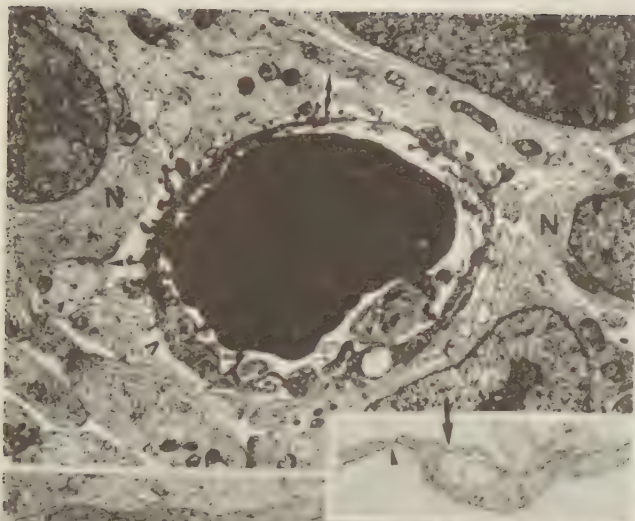


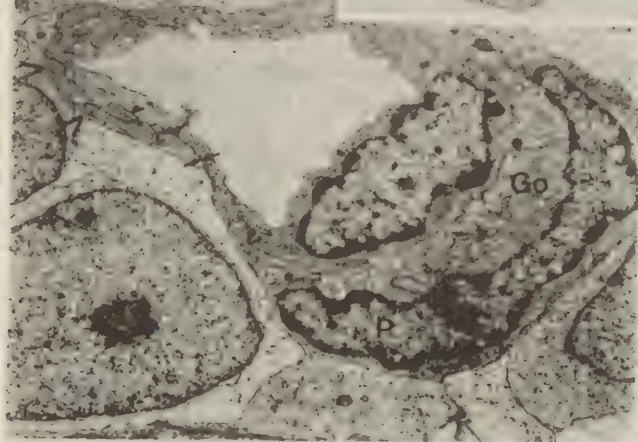
Abb. 4

- a) Querschnitt durch ein intracerebrales Gefäß
in der Phase 1. (14. Embryonaltag)
Typisch sind: der unterschiedlich weite perivaskuläre Spalt (↓) ohne Kollagenfibrillen und Fibroblasten, die mit ihrem Soma angrenzenden neuroektodermalen Zellen (N) und die unebene Endotheloberfläche mit Einfaltungen, Bildung von basalen Füßchen (*), und langen Überlappungen der Endothelfortsätze (↓). Beachte die Fenestrations in der Endothelwand und die ersten Ansätze der BM-Entwicklung (V).
(Vergr.: 8000:1)
- b) Pore mit Diaphragma (V) im embryonalen Endothel.
Beachte die Membranfusion zwischen Vakuolenwand und basaler Endothelzellmembran (↓).
(Vergr.: 50 000:1)
- c) Querschnitt durch eine Kapillare in der Phase II (Matrix, 17. Embryonaltag)
Beachte den gleichmäßig engen perivaskulären Spalt (↓). Das Fehlen größerer interzellulärer Lücken, den Pericyten (P), die periendotheliale Fortsätze teils endotheliale, teils pericytärer Herkunft, die sich überlappen und verzahnen (V) und das Endothel fast vollständig umgeben, sowie das ausgeprägte rauhe ER (r) und die Golgi Zonen (Go) im Endothel bzw. Pericyten. In das Cytoplasma des Pericyten stülpt sich ein basaler Endothelfortsatz ein (*).
(Vergr.: 10 000:1)

a



b



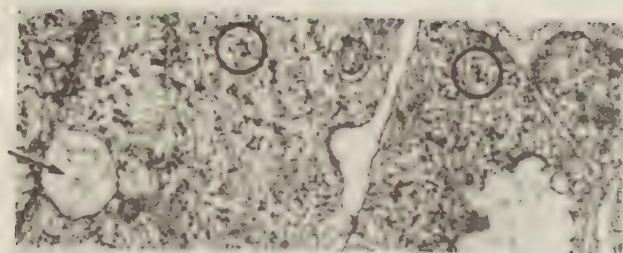
c

Abb. 5

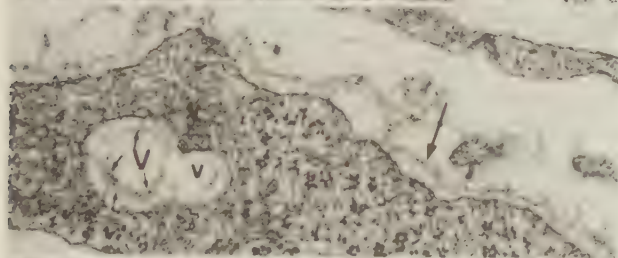
Anzeichen für eine Ausschleusung von BM-Material in Vakuolen an den marginalen Gliaoberflächen.

(11. Embryonaltag; Vergrößerung 70 000:1)

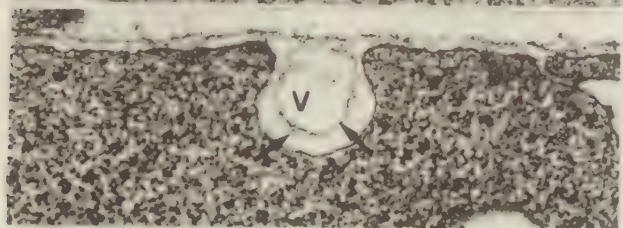
- a) Vakuolige Ausstülpung der perinukleären Zisterne mit BM ähnlichem Material (↓). Im übrigen Cytoplasma sind die freien Ribosomen (O) zahlreich, während das rauhe ER (▼) spärlich entwickelt ist.
- b) Im Cytoplasma eines Fortsatzes liegt eine Vakuole (V). An ihrer inneren Oberfläche ist BM-Material ebenso adaptiert wie an der marginalen Oberfläche (↓). In die Vakuole scheinen sich zwei kleine Vesikel geöffnet zu haben (V).
- c) Eine Vakuole (V) ist zur marginalen Oberfläche geöffnet und von einer ringförmigen BM-Lamelle ausgekleidet (↓).
- d) Einschlüsse in einem Fortsatz, die filamentäres BM-Material (↓) enthalten. Dies ist jeweils konzentrisch um einen dünnen Cytoplasmafortsatz in einem vakuolären Hohlraum angeordnet.
- e) Die marginale BM (↓) überbrückt eine Zellmembraneinbuchtung, in der sich ein von BM umgebener Cytoplasmafortsatz (*) und ein leer erscheinender Membransack befindet.



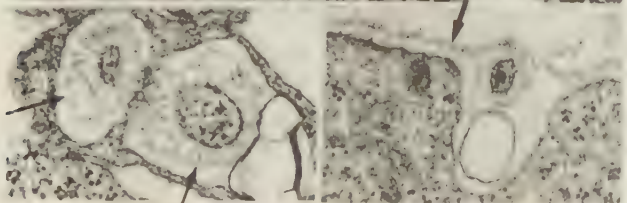
a



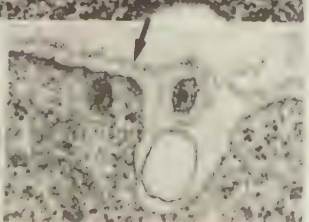
b



c



d



e

Abb. 5 Morphologische Anzeichen für Sekretionsvorgänge.

- a) Rauhes endoplasmatisches Retikulum (ER) in einem Pericyten in der Leptomeninx (14. Embryonaltag). Das raue ER ist aufgebläht und enthält unscharf begrenztes filamentäres Material und steht in Verbindung mit der perinucleären Zisterne (v). Es hat sich lokal bis auf weniger als 10 nm der Zelloberfläche angelagert (↓).
(Vergr.: 70 000:1).
- b) Gefäßwandabschnitt (16. Embryonaltag).
Fusion einer weiten Zisterne des rauhen ER mit der äußeren Zellmembran (↓) eines Pericytenfortsatzes. (Vergr.: 30 000:1)
- c) Kapillarwand (19. Embryonaltag).
Im Cytoplasma des Pericytenausläufers befinden sich mehrere glattwandige Vakuolen (0), in die z.T. rauhes ER mündet (*). Zur leptomeningealen Seite hin ist die Pericytenoberfläche von einer locker strukturierten nicht immer kontinuierlichen BM bedeckt (↓). Zwischen Pericyt und Endothel liegt nur spärlich BM-Material (↓).
(Vergr.: 31 000:1)
- d) Kapillarendothel (E) und Pericyt (P) im Parietalcortex (7Tage postnatal).
Zwischen Endothel und Pericytenoberfläche liegt eine dünne, unterschiedlich ausgeprägte Lamina densa (↓). Zwischen der subendothelialen Oberfläche und einem dicht darüber laufenden ER Profil sind zwei Poren mit Diaphragmen erkennbar (↓).
(Vergr.: 90 000:1)

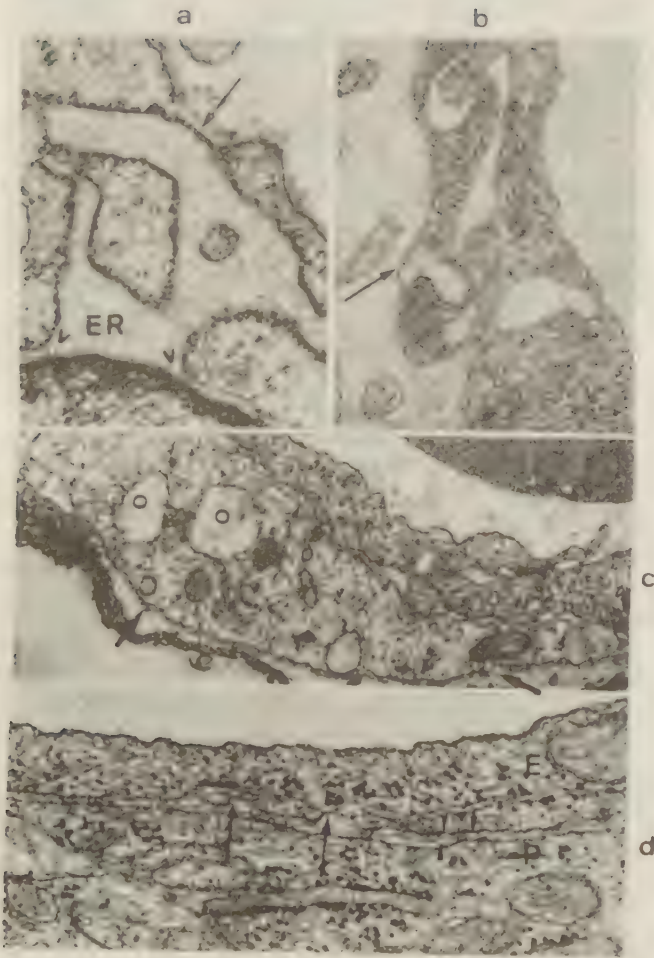


Abb. 7 Ontogenese intracerebraler Kapillärwände.

- a) Frühembryonale Gefäßwand (14. Embryonaltag):
Unregelmäßig gefaltete Endotheloberflächen, pseudopodienähnliche Fortsätze, endotheliale Überlappung mit zwei Interzellularkontakten (K), unterschiedlich große Vakuolen im Endothel und geringe Anlagerung von BM-Material (↓). (BM-Stadium 1) (Vergr.: 42 000:1)

- b) Reifende Kapillare im subcorticalen Mark (20. Embryonaltag)
Das Endothel (E) ist fast vollständig von einer dünnen Pericytenlamelle (P) umgeben. Zwischen perivaskulärer Glia (G) und Gefäßwand liegt eine locker strukturierte BM (Stadium 2). Stellenweise sind getrennte vaskuläre und neurale BM-Lamellen zu erkennen (↓). Zwischen Pericytenlamelle und Endothel ist fast keine BM entwickelt. Beachte die basalen Endothelfortsätze (*) und die elektronendichten, vesikelgroßen Einschlüsse im Glioblastenfortsatz (▼). (Vergr.: 30 000 :1)

- c-e) Postnatale Entwicklung im Parietalcortex (BM-Stadium 3-4, 13-20 Tage)

- c) Die Zellmembranen von Endothel (E), Pericyten (P) und perivaskulärer Glia (G) liegen eng aneinander. Den dazwischen freibleibenden Spalt füllt eine kontinuierliche feinfilamentäre BM aus (X). Beachte die enge Anlagerung des ER an die Zellmembran (↓). (Vergr.: 60 000:1)
- d) Die BM ist breiter als im vorigen Bildausschnitt. Das Endothel (E) ist dünn und enthält nur wenige Ribosomen. (Vergr.: 60 000:1)
- e) Die BM hat sich weiter verdickt und ist jetzt ein gleichmäßig elektronendichtes, filamentäres Band zwischen Endothel (E) und perivaskulärer Glia (G). Beachte die Intracytoplasmatischen Einbuchtungen (*). (Vergr.: 60 000:1)

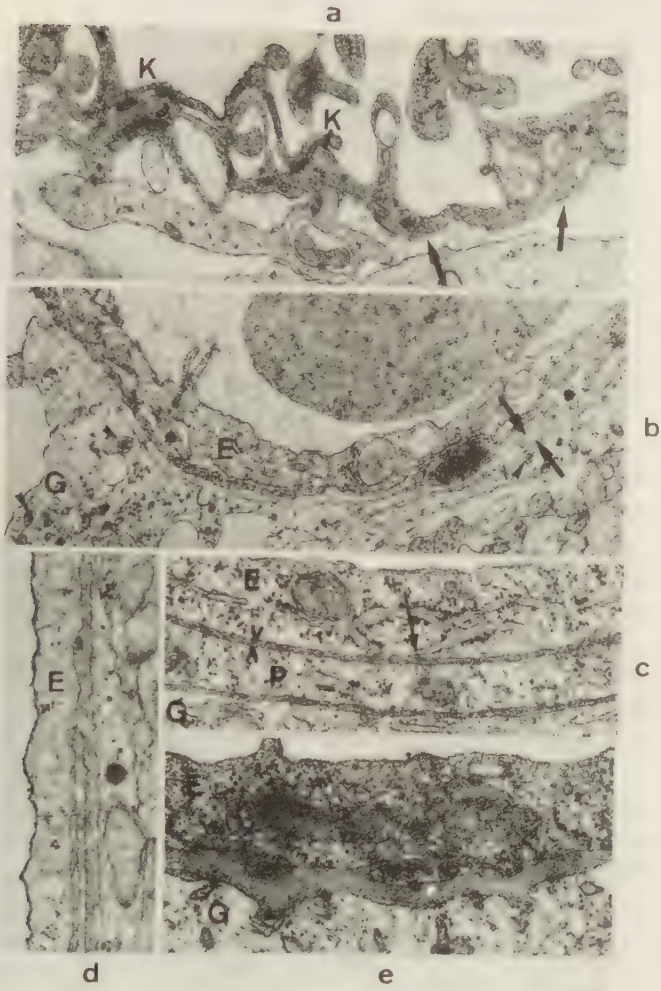


Abb. 8 Entwicklung der BM an intracerebralen Kapillaren
(Stadium 3-4)

a) Kapillare im superficialen Parietalcortex
(7 Tage postnatal)

Das Endothel (E) ist noch relativ dick und besitzt, ebenso wie die perivaskuläre Glia (G), viele freie Ribosomen (O) und ein gut entwickeltes rauhes ER. Zwischen perivaskulärer Glia und Gefäßwand sind zwei getrennte BM-Lamellen (↓) sichtbar; oben ist nur noch eine BM-Lamelle vorhanden (▼). Beachte die Filamentstruktur der BM und das zur BM geöffnete "Stachelsaumbläschen" mit Filamenten an der Innenwand (▼). (Vergr.: 70 000:1)

b) Gefäßwand aus dem Parietalcortex (13 Tage postnatal)

Die Anzahl der freien und membrangebundenen Ribosomen (O) ist im Endothelperikaryon (E) und im Cytoplasma der perivaskulären Glia (G) jetzt geringer. An mehreren Stellen der BM (↓) ist eine doppelte Lamina densa sichtbar. An der Spitze der schmalen Pericytenausläufer (*) ist die BM ein kurzes Stück lang in zwei Anteile gespalten. Elektronendichte Granula liegen im Cytoplasma des Endothels und an der subendothelialen Oberfläche (V). (Vergr.: 70 000 : 1)

c) Kapillarausschnitt aus dem subcortikalen Mark einer erwachsenen Ratte.

Das Endothel (E) ist abgeflacht. Im Cytoplasma sind nur vereinzelt Vesikel (↓) vorhanden. Die BM ist in ihrer ganzen Breite gleichmäßig vernetzt und elektronendicht. (G): extrem dünne perivaskuläre Astroglia-Lamelle; (M): Myelinscheide, (Vergr.: 80 000 : 1)



Abb. 9 Postnatale Entwicklung der BM-Dicke (Lamina densa = BM) und der Breite der perikapillären Spalten (PKS) zwischen Gefäßwandzellen und Astroglia. Die Messungen für jedes Alter (7,13,20 Tage p.n.; erwachsen) wurden an Bildern mit einer Endvergrößerung zwischen 30 000 : 1 und 100 000 : 1 durchgeführt, in denen je ca. 50 zufällige Meßpunkte verwertet wurden.

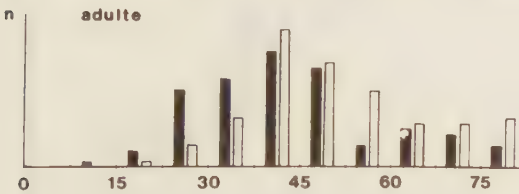
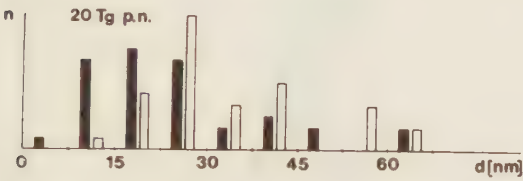
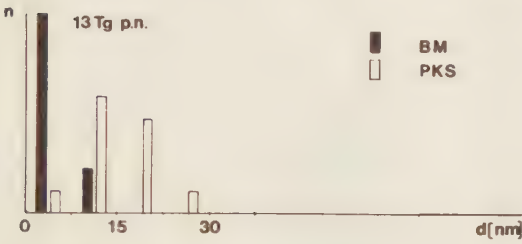
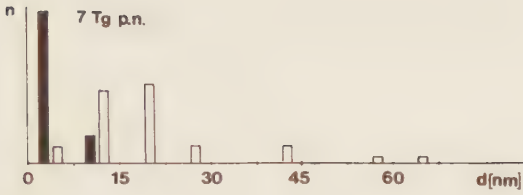
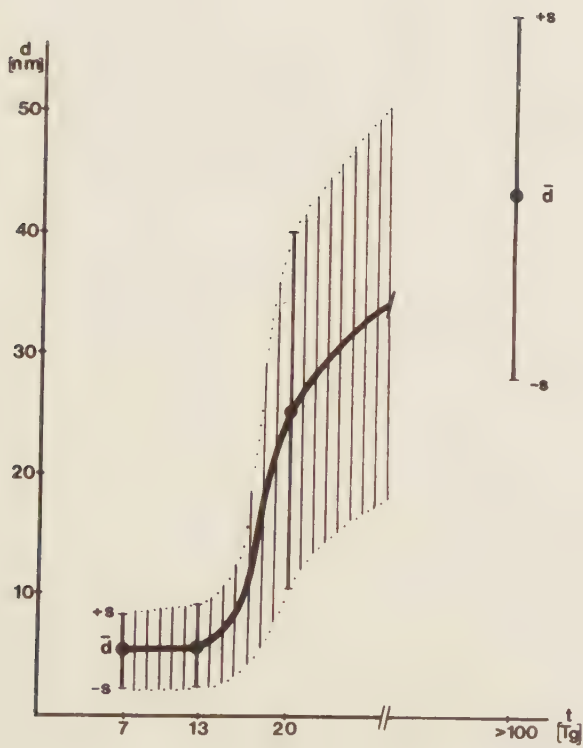


Abb. 10 BM-(Lamina densa)-Dicke (Ordinate)

In Abhängigkeit vom Alter (Abszisse).
Die steigende Standardabweichung bei
steigender BM-Dicke beruht auf dem
zunehmenden Einfluß schräg geschnitt-
ener BM-en, aber auch auf lokalen Un-
terschieden der BM-Dicke - besonders
am Rande von Pericytenfortsätzen.



Herrn Professor Dr. med. J. Wolff danke
Ich herzlich für die Überlassung des
Themas, für die freundliche Unterstütz-
ung und die Geduld bei der Durchführung
dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch den Assistentinnen
und Mitarbeitern des II. Anatomischen
Institutes der Freien Universität Berlin,
die mir bei der elektronenmikroskopischen-,
der photographischen- und der Schreibarbeit
eine große Hilfe waren.

Lebenslauf

Am 9.2.1943 wurde ich, Thomas Bär, als Sohn des Dr. phil. nat. Friedrich Bär und seiner Ehefrau Gerda, in Berlin-Wilmersdorf geboren.

Die frühe Kindheit erlebte ich in Osterode und anschließend in Appraten b. Düsseldorf. 1949 wurde ich in Wülfrath eingeschult. 1950 kehrten wir nach Berlin zurück, wo ich verschiedene Schulen besuchte, zuletzt die Shadow-Schule in Zehlendorf. Dort legte ich im März 1962 die Reifeprüfung ab. Nach dem Medizinstudium an der FU Berlin bestand ich im März 1969 das Staatsexamen mit der Note "gut".

Anschließend arbeitete ich in der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie und fertigte unter der Leitung von Prof. Dr. J.R. Wolff die vorliegende Dissertation an.

